Содержание антиоксидантов в биологически активном гидролизате на основе культур молочнокислых бактерий.

Гаранян Г.С.

ГУО ВПО "Пятигорская Государственная Фармацевтическая Академия" федерального агенства по здравоохранению и социальному развитию

Содержание антиоксидантов в гидролизате молочнокислых бактерий входящих в состав поливидовой закваски БК-Улич №4

Исследование суммарного содержания антиоксидантов в гидролизате молочнокислых бактерий, входящих в состав поливидовой закваски БК-Улич №4, проводили на жидкостном хроматографе «Цвет Яуза-01-АА». Сущность метода состоит в том, что при окислении молекул антиоксидантов на поверхности рабочего электрода изменяется напряжение тока, которое автоматически регистрируется амперометрической ячейкой. Данные из детектора поступают в ЭВМ и фиксируются специальным программным обеспечением [1].
Концентрацию антиоксидантов определяли исходя по площади пика дифференциальной кривой полученного гидролизата [2].
Массовую концентрацию антиоксидантов измеряют, используя градуировочный график зависимости выходного сигнала от концентрации глутаминовой кислоты [2]

Приготовление раствора глутаминовой кислоты с концентрацией 0,01М (моль/л)
На аналитических весах в стаканчике взвешивали (0,0735 ± 0,0001) г глутаминовой кислоты, добавляли 20 мл дистиллированной воды. Содержимое стаканчика количественно переносили в мерную колбу вместимостью 50 мл, доводили объем до метки дистиллированной водой и тщательно перемешивали.
Раствор готовили непосредственно перед градуировкой прибора.
Градуировочные растворы глутаминовой кислоты с массовой концентрацией 7,35; 9,1875; 11,025; 12,8625; 14,7 мг/л готовили по следующей методике.
В мерные колбы вместимостью 20 мл пипеточным дозатором вводили 100, 125, 150, 175, 200 мкл раствора глутаминовой кислоты с концентрацией 1моль/л, доводили объем до метки дистиллированной водой и тщательно перемешивали. Градуировочные растворы готовили каждый раз при градуировке и их погрешность не должна превышать ± 2,5 %.
Для определения водорастворимых антиоксидантов в качестве подвижной фазы разработчики прибора предлагают использовать раствор ортофосфорной кислоты с молярной концентрацией 0,0022 моль/л (элюент) [3].
С целью исключения случайных результатов и усреднения данных проводят по 5 последовательных измерений каждого из пяти градуировочных растворов глютаминовой кислоты. За результат принимали среднее арифметическое значение из 5 измерений (относительное среднеквадратическое отклонение не более 5 %).
По полученным данным строят градуировочный график, который описывается уравнением $Y = aX + b$. В координатах: X – сигнал глутаминовой кислоты (площадь пика), нАС; Y - массовая концентрация глутаминовой кислоты, мг/л.
Анализируемую пробу готовят следующим образом. Точную массу (около 1,0 г) сухой бактериальной культуры заливают 100 мл 0,01Н хлороводородной кислоты и добавляют примерно 0,3 мг/мл кристаллического пепсина. Смесь инкубируют 6 часов при температуре 37°С, после чего полученную взвесь центрифугируют при 5000 мин-1 20 мин, супернатант декантировали (раствор А) [4].
Массовую концентрацию X, мг/г, определяли по формуле:

$$X = X_г \cdot N, \qquad (7)$$

где $X_г$ – массовая концентрация антиоксидантов, найденная по градуировочному графику, мг/л;
N – кратность разбавления анализируемого образца.
Площадь пика составила 9845 нА/с, концентрация антиоксидантов в пересчете глутаминовую кислоту - 34,54±0,97 мг/г.

Библиографический список

1. Короткова, Е.И. Новый вольтамперометрический способ определения активности антиоксидантов / Е.И. Короткова, Ю.А. Корбаинов, О.А. Аврамчик // "Биоантиоксидант"; тез. докл. VI междунар. конф. 16-19 апр. 2002 г. – М., 2002. – С. 298-299.
2. Пат. 2238554 Российская Федерация, МКИ G01 N33/15 N27/26. Способ определения суммарной антиоксидантной активности биологически активных веществ / В.П. Пахомов [и др.] (РФ). – № 2003123072/15; заявл. 25.07. 03; опубл. 20.10.04, Бюл. № 15. – 3 с.
3. Определение антиоксидантной активности экстрактов растительного сырья методом катодной вольтамперометрии / Е.И. Короткова [и др.] // Хим. - фармац. журн. – 2003. – Т.37, №9. – С. 55-56.
4. Девени, Т. Аминокислоты, пептиды, белки: пер с анг / Т. Девени,Я.-м. Гергей;Мир,1976.-386с.