

ДО ПИТАННЯ ВАЛІДАЦІЇ МЕТОДИКИ ВИЗНАЧЕННЯ ЗАГАЛЬНОГО ВМІСТУ ПОЛІФЕНОЛІВ У ХАРЧОВИХ СИСТЕМАХ

Загальний вміст поліфенолів (ЗВП) в дослідних зразках, включаючи харчові системи, визначають спектрофотометричним методом з реактивом Folin-Ciocalteu (FC) згідно протоколу Singleton and Rossi. Однією з умов використання цього протоколу є необхідність отримання експериментальних значень оптичної густини в діапазоні, що не перевищую значення оптичної густини стандартного розчину з максимальною концентрацією. Як правило, в якості стандартного розчину використовують водний розчин галової кислоти з максимальною концентрацією до 500 мкг/мл, а значення ЗВП виражають в галовому еквіваленті (ГКЕ). Використання стандартних розчинів з концентрацією вище за 500 мкг/г градувальний графік залежності оптичної густини від концентрації галової кислоти стає нелінійним. При аналізі об'єктів, коли мова йде про визначення ЗВП, ця обставина не повинна за логікою бути суттєвою. Дійсно, якщо маємо аналогічну нелінійну залежність для рослинного зразка, розрахунок проводимо по стандартній процедурі з урахуванням нелінійності стандартної кривої. Чи є така теза достатньою умовою для отримання правильних значень ЗВП в зразках?

Для отримання відповіді на поставлене питання процедура визначення ЗВП була видозмінена та досліджена на прикладі водних екстрактів ромашки та м'яти як сировини при виготовленні харчових систем. Так, для екстракту м'яти, замість одного зразка масою 0,1 г в стандартній процедурі визначення ЗВП, що приведена вище, були використано 6 зразків з масою в діапазоні 0,06–0,35 г., а для екстракта ромашки відповідно 3 зразки з масою в діапазоні 0,15–0,35 г (рис.). Як свідчать отримані результати, для екстракту ромашки всі зразки мають оптичну густину в діапазоні лінійності градувального графіку до величини 0,6. Розраховані значення ЗВП для кожного з 3 зразків були отримані в діапазоні 15,8–16,9 мг ГКЕ/г сухої речовини (СР) з середнім значенням 16,5 мг ГКЕ/г СР. Апроксимація отриманої залежності лінійною регресією з включенням нульової концентрації дозволяє отримати значення 17,1 мг ГКЕ/г СР. Це величина є більш статистично обґрунтованою, ніж середнє значення кількох вимірів або взагалі одного. В разі екстракту м'яти була отримана нелінійна залежність оптичної густини від маси зразка після 0,1 г.

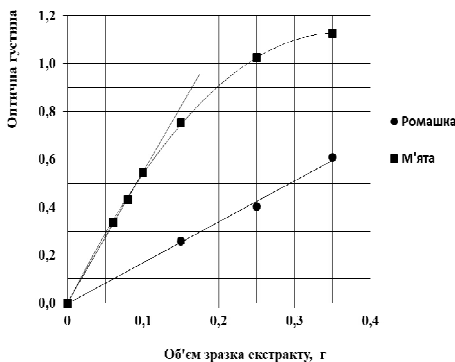


Рис. Залежність оптичної густини екстрактів м'яти та ромашки від доданого об'єму екстракту в реакції з реактивом Folin-Ciocalteu

При розрахунку ЗВП по стандартній процедурі, навіть при застосуванні нелінійного градуувального графіку, отримуємо значення для одного і того ж зразка в діапазоні 31,3–55,0 мг ГКЕ/г СР, що навряд чи є задовільною процедурою. Маємо невизначеність величини ЗВП зразка та її залежність від величини маси зразка екстракту в процедурі визначення. При використанні лише лінійної залежності, тобто для екстракту м'яти це 3 із 6 точок в діапазоні 0,06–0,1 г має величину ЗВП в діапазоні 52,6–55,0 мг ГКЕ/г СР. При апроксимації залежності лінійною регресією отримуємо єдине значення 55,0 мг ГКЕ/г СР.

Таким чином, для отримання правильних величин ЗВП досліджуваних об'єктів маємо модифікацію спектрофотометричної процедури визначення ЗВП з реактив FC, що включає наступне:

1) застосування декількох зразків досліджуваного об'єкта замість одного з варіюванням співвідношення реактив FC : відновник (поліфеноли зразка) з перевіркою лінійності аналітичного сигналу в робочому діапазоні концентрацій зразків;

2) використання маси зразків в процедурі, оптична густина розчинів яких не перевищують максимальної оптичної густини лінійного діапазону градуувального графіка для стандартного розчину;

3) апроксимацію залежності кривою лінійної регресії (з включенням нульового значення) для отримання статистично обґрунтованих величин ТРС.

Проведена валідація модифікованої методики для іншої рослинної сировини та харчових систем.