

Phát triển và thẩm định phương pháp quang phổ UV-Vis xác định hoạt tính nattokinase trong sữa bột

Nguyễn Ánh Tuyết^{1*}, Mạc Thị Thanh Hoa¹, Nguyễn Quang Hùng¹,
Vũ Ngân Bình², Bùi Đại Cường², Cao Công Khánh³

¹Viện Kiểm nghiệm an toàn vệ sinh thực phẩm quốc gia, Hà Nội, Việt Nam

²Trường Đại học Dược Hà Nội, Hà Nội, Việt Nam

³Cục An toàn thực phẩm, Hà Nội, Việt Nam

Tóm tắt

Nghiên cứu này xây dựng và thẩm định phương pháp quang phổ hấp thụ phân tử UV-Vis để xác định hoạt độ phân giải fibrin của Nattokinase (NK) trong nền sữa bột. NK được chiết bằng dung dịch chứa calci sulfat, natri clorid, đệm natri acetat pH 6,0 và Triton X-100. Hoạt độ được xác định gián tiếp thông qua lượng sản phẩm thủy phân fibrin hòa tan trong acid trichloroacetic, hấp thụ tại 275 nm. Trong phạm vi khảo sát, điều kiện phản ứng tối ưu là đệm borat pH 8,5, nhiệt độ 37 °C và thời gian phản ứng 60 phút. Tín hiệu phân tích có mối quan hệ tuyến tính với độ pha loãng của dung dịch gốc Nattokinase trong khoảng 0,67 - 1,33 FU/mL với phương trình $y = 0,0602x - 0,0004$ và $R^2 = 0,9971$. Giới hạn phát hiện và giới hạn định lượng ước tính lần lượt là 2,23 và 7,42 FU/g. Độ thu hồi tại ba mức hoạt độ 16,7; 20,0 và 33,3 FU/g đạt 96,7 - 103 %, độ lệch chuẩn tương đối của độ lặp lại và độ chính xác trung gian lần lượt nằm trong khoảng 1,43 - 2,10 % và 1,75 - 2,66 %. Khi áp dụng cho 10 mẫu sữa bột thương mại, hoạt độ xác định được đạt 89,6 - 103 % so với giá trị ghi nhãn. Kết quả cho thấy phương pháp có hiệu năng phù hợp với mục đích kiểm soát hoạt độ phân giải fibrin của NK trong nền sữa bột. Giá trị FU trong nghiên cứu được quy ước dựa vào phép đo điểm cuối ở điều kiện phản ứng cố định.

Từ khóa: nattokinase, sữa bột, quang phổ UV-Vis, thẩm định phương pháp, hoạt độ phân giải fibrin.

*Corresponding author: Nguyen Anh Tuyen (E-mail: tuyetna@nifc.gov.vn)
Doi: (The Journal will assign a doi number for the published article)

Development and validation of a UV-Vis spectrophotometric method for the determination of nattokinase activity in milk powder

Nguyen Anh Tuyet^{1†}, Mac Thi Thanh Hoa¹, Nguyen Quang Hung¹,
Vu Ngan Binh², Bui Dai Cuong², Cao Cong Khanh³

¹National Institute for Food Control, Hanoi, Vietnam

²Hanoi University of Pharmacy, Hanoi, Vietnam

³Vietnam Food Administration, Hanoi, Vietnam

Abstract

This study developed and validated a UV-Vis spectrophotometric method for determining the fibrinolytic activity of nattokinase (NK) in a milk powder matrix. NK was extracted with a solution containing calcium sulfate, sodium chloride, sodium acetate buffer pH 6.0 and Triton X-100. The activity was determined indirectly from the amount of trichloroacetic acid-soluble fibrin hydrolysis products, measured at 275 nm. Within the investigated experimental domain, the selected assay conditions were 50 mM borate buffer at pH 8.5, 37 °C, and a fixed reaction time of 60 min. A linear dilution response was observed at five nominal activity levels from 0.67 to 1.33 FU/mL, with $y = 0.0602x - 0.0004$ and $R^2 = 0.9971$. The estimated limits of detection and quantification were 2.23 and 7.42 FU/g, respectively. Recoveries at 16.7, 20.0, and 33.3 FU/g ranged from 96.7 % to 103 %; repeatability and intermediate-precision RSD values were 1.43 - 2.10 % and 1.75 - 2.66 %, respectively. In 10 commercial milk powder samples, measured activity was 89.6 - 103 % of the labeled value. The method is suitable for routine quality control assessment of NK fibrinolytic activity in milk powder provided that sample extracts are diluted to the validated response interval. The reported FU value is an operational endpoint activity under fixed assay conditions and should not be interpreted as an initial reaction rate or an independently traceable absolute activity.

Keywords: *nattokinase, milk powder, UV-Vis spectrophotometry, method validation, fibrinolytic activity.*

[†]Corresponding author: Nguyen Anh Tuyet (E-mail: tuyetna@nifc.gov.vn)
Doi: (The Journal will assign a doi number for the published article)