

## Lõputöö kokkuvõte

*Autor:* Kirsipuu Anni-Brit

*Töö pealkiri:* *Escherichia coli* isotoopmärgistatud biomass aminohapete analüüsi sisestandardina

*Ülikool:* Tallinna Tehnikaülikool

*Teaduskond:* Matemaatika-loodusteaduskond

*Instituut:* Keemiainstituut

*Õppetool:* Biotehnoloogia õppetool

*Töö juhendajad:* Karl Peebo, Raivo Vilu

*Sisu kirjeldus:*

Tänapäeval kasutatakse aminohapete analüüsi mitmete proovide analüüsiks. Analüüsi täpsuse ning korratavuse parandamiseks saab kasutada erineva isotoopkoostisega referentsmaterjale. Erineva isotoopkoostisega aminohapete kõrge hind on siiani suureks takistuseks nende kasutamisel rutiinproovide analüüsi sisestandardina. Seetõttu otsustati käesolevas töös toota  $^{13}\text{C}$ -märgistatud *Escherichia coli* biomassi, kasutades odavamat substraati, ja testida selle kasutusvõimalikkust biotehnoloogia ning toidutööstuse proovide aminohappelise koostise mõõtmisel.

Katsete tulemustest järeldus, et kui toota  $^{13}\text{C}$ -märgistatud biomassi, kasvatades *E. coli* söötmel, mis sisaldab  $^{13}\text{C}$ -glükoosi, on võimalik saada laboritele jõukohane standardi hind ning väga kõrge (üle 98%)  $^{13}\text{C}$ -isotoobi märgistatuse tase kõikides aminohapetes. Sisestandardi kasutamine võimaldas oluliselt lühendada hüdrolyüsi kestvust (24h hüdrolyüsi asemel võeti kasutusele 75-minutiline hüdrolyüs temperatuuril 155°C) ja seega vähenes ka kogu aminohapete analüüsile kuluv aeg.

$^{13}\text{C}$ -sisestandardi ja seni laboris kasutusel oleva välisstandardi meetodite võrdlemiseks analüüsiti rutiinselt laboris kasutatava pärmiekstrakti baseeruva söötme aminohappelist koostist. Söötme proovide aminohapete kontsentratsioonid olid sarnased ja võrreldavad, kuid sisestandardit kasutades paranes oluliselt analüüsi korratavus. Keskmise relatiivne standardhälve jäi sisestandardit kasutades kõikide aminohapete puhul alla 6%, seevastu ilma sisestandardita oli see oluliselt kõrgem vähemalt viie aminohappe puhul.

Antud töös mõõdeti  $^{13}\text{C}$ -sisestandardi ning BSA abil keerukama toidumaatriksi, milleks oli sertifitseeritud imiku piimasegu 1849a, aminohappelist koostist ja võrreldi tulemusi NIST sertifikaadi andmetega. Selgus, et pea kõikide mõõdetud aminohapete kontsentratsioonid

langesid hästi kokku NIST sertifikaadi andmetega, kuid arginiini, türosiini ning glütsiini kontsentratsioonid erinesid ~25% võrra sertifitseeritud väärtustest. Antud töö raames ei suudetud välja selgitada, mis võis sellise erinevuse põhjustada, kuid järgnevalt on plaanis läbi viia analüüs pikema hüdroolüüsi ning välisstandardiga, et välja selgitada võimalikud põhjused.