

TÚRÓFÉLESEGEK FEHÉRJETARTALMÁNAK MEGHATÁROZÁSA SPEKTROFOTOMETRIÁSAN AZ ULTRAIBOLYA TARTOMÁNYBAN

GÁBOR MIKLÓS^{NÉ*}

A korszerű élelmiszer vizsgálati eljárások egyik ismérve a pontosság mellett a gyorsaság. Így lehetővé válik nemcsak nagyszámú minta vizsgálata, hanem a gyártás-közi ellenőrzés is aktív része lesz a termelésnek, mivel a vizsgálati minták gyors elemzése alapján lehetővé válik az esetleg szükséges összetételmódosítás.

Az élelmiszer összetevők közül kiemelkedő szerepe van a fehérjének, amely szervezetünk számára nemcsak kalóriát, hanem építőanyagot is szolgáltat. A fehérjetartalom meghatározására számos szakközlemény jelent meg. Ezek közül egyik legelterjedtebb a Kjeldahl-féle eljárás, illetve ennek igen sokféle módosítása (1, 2, 3, 4, 5). Újabb keletűeknek tekinthetők a fehérjék színreakciójával kapcsolatos vizsgálati eljárások, amelyek lényege, hogy a fehérje adott vegyületekkel, meghatározott körülmények között koncentrációjának megfelelő arányában színes komplexet képez, amelynek színintenzitása a fehérjetartalommal arányos. A keletkezett szín kolorimetriásan vagy fotometriásan mérhető (6, 7, 8.). Szintén fotometriásan értékelhetők ki azok az eljárások, amelyek során a fehérje és valamely alkalmas színezék között kialakult kötődésből adódó színintenzitás változás nagyságából következtetünk a fehérjetartalomra (9, 10). Viszonylag újabb keletűek a fehérjék fényabszorpcióján alapuló spektrofotometriás eljárások. Ezek azon alapulnak, hogy a fehérjék az ultraibolya tartományban abszorbeálják a fényt. A peptidkötés jelenlétéből kifolyólag a 230 nm érték alatt, míg az aromás aminosavak a 280 nm érték körül mutatnak maximális fényabszorpciót. Ennek nagysága a fehérjeoldat fehérjetartalmával arányos (11).

Egyes élelmiszerek fehérjetartalmának ilyen jellegű meghatározására viszonylag kevés irodalom áll rendelkezésre (12, 13, 14, 15). Korábbi hasonló kísérleteink alapján próbáltuk kidolgozni a túrókészítmények fehérjetartalmának meghatározására eljárást. Ennek lényege, hogy a vizsgálandó anyagból megfelelő reagensek segítségével kristálytiszta fehérjeoldatot állítunk elő, s a jellegzetes abszorpciós maximumon mérjük a fehérjetartalommal arányos fényabszorpció mértékét, az extinkciót.

* Kémia Tanszék

1. KÍSÉRLETI KÖRÜLMÉNYEK

1.1 Szükséges eszközök

Ultraibolya tartományban mérő spektrofotométer,
1 cm-es kvarcküvetta,
100 cm³-es hasas pipetta,
1 cm³-es precíziós pipetta,
10 cm³-es büretta,
10 cm³-es csiszoltdugós kémcső,
250 cm³-es Erlenmeyer lombik.

1.2 Szükséges vegyszerek, anyagok:

0,1 n nátrium-hidroxid oldat,
97%-os ecetsav oldat,
kloroform, alt.

2. A MEGHATÁROZÁS MENETE

2.1 A minta előkészítése, tárolása

A mintát kézi kavarrással gondosan egyenmésítjük. Egyes túróféléseknél, pl. tehéntúró esetében ezt célszerű nagyobb dörzsmozsárban végezni a finomabb szerkezet kialakítása céljából. A homogenizált, finomított mintát gondosan letakart edényben, hűtőszekrényben tárolhatjuk.

2.2 Szuszpenziókészítés

A túrófehérje közvetlenül nem oldható. Ezért első lépésben szuszpenziót kell készíteni, megfelelő reagenssel. Különböző tehéntúrókészítmények esetében jónak mutatkozott a nátriumhidroxid oldat. Krémtúró esetében 6,00 g anyaghoz, amelyet Erlenmeyer lombikba mértünk be táramérleggel, 100 cm³, előzőleg 45 °C-ra felmelegített lúgoldatot pipettázunk. Rövid állásidő után a szuszpenzió kialakul, amelyet állandó forgatással gyorsabban elősegíthetünk.

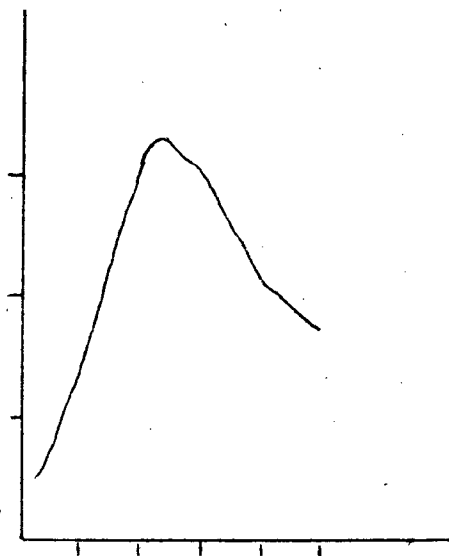
2.3 A spektrofotometriás eljárás

A homogén szuszpenzióból 1 cm³-t kémcsőbe pipettázunk, majd bürettából hozzámérünk 8 cm³ ecetsavat és 1 cm³ kloroformot. Elegyítés után kristálytiszta oldatot kapunk, amely fotometrálnak alkalmas.

A fotometriás kompenzálóoldat összetétele: 1 cm³ nátriumhidroxid, 8 cm³ ecetsav és 1 cm³ kloroform.

2.4 A mérési hullámhossz megállapítása

A 2.3 pont szerint elkészített oldatot fotometrálnak 330-250 nm hullámhossz értékhatárok között. A spektrumot az 1. ábra szemlélteti. Méréseinknek megfelelően, a további vizsgálatokat a 276 nm értéken eszközöltük.



1. ábra. Krémtúró- fehérjeoldat spektruma

2.5 Kalibrációs egyenes felvétele

A fotometrálassal kapott extinkcióértékekből kalibrációs egyenes szerkesztésével tudunk a vizsgált minta százalékos fehérjetartalmára következtetni. A kalibrációs egyenes felvételéhez szükséges adatokhoz úgy jutunk, hogy különböző fehérjetartalmú mintákat készítünk ismert mennyiségű tengeri homok hozzá mérésével az eredeti minta ismert mennyiségéhez, s az így kapott új mintasorozatot megmérjük egyrészt Kjeldahl- szerint, másrészt spektrofotometriásan. Az összetartozó értékpárokat koordináta rendszerben ábrázoljuk. Vizsgálati adatainkat, valamint a kalibrációs egyenest az 1. táblázat mutatja.

A kalibrációs egyenes szerkesztését elhagyhatjuk, ha a vizsgálati adatokból kiszámoljuk a *regressziós egyenes* egyenletét. Lineáris programot feltételezve, a mérési ered-

1. TÁBLÁZAT

Kalibrációs egyenes szerkesztéséhez készített krémtúró-homok minták súlyarányai, a fotometráls és Kjeldahl-vizsgálat adatai

Mintaösszetétel, g		Fehérjetartalom, % Kjeldahl szerint*	Extinkcióérték*
túró	homok		
7,00	0,00	11,20	0,776
6,00	1,00	8,29	0,474
4,00	3,00	6,46	0,384
3,00	4,00	4,97	0,270

* Hét minta vizsgálatának átlagértékei,

ményekből nyert összefüggés PTK—1072 zsebkalkulátorral számolva):

$$y = 12,4x + 1,90,$$

ahol y = a fehérjetartalom %-os értéke,
 x = a fotometrálassal nyert extinkcióérték.

Tehát az extinkcióérték ismeretében a százalékos fehérjetartalom kiszámítható. Az r korrelációs koefficiens értékét az alábbi összefüggés alapján számítottuk ki:

$$r^2 = \frac{\left[\sum x_i y_i - \frac{\sum x_i \sum y_i}{n} \right]^2}{\left[\sum x_i^2 - \frac{(\sum x_i)^2}{n} \right] \left[\sum y_i^2 - \frac{(\sum y_i)^2}{n} \right]}$$

A kapott érték, $r = 0,9998$ volt, az 1-et igen jól megközelítette, ami azt jelenti hogy a két módszer közötti kapcsolat szoros.

3. A SPEKTROFOTOMÉTERES FEHÉRJETARTALOM MEGHATÁROZÁSI ELJÁRÁS PONTOSSÁGÁNAK MATEMATIKAI ÉRTÉKELÉSE

A matematikai számítások elvégzéséhez összehasonlító vizsgálatként — irodalmi adatok alapján — a Kjeldahl szerinti fehérjetartalom meghatározást választottuk.

Mindkét eljárással — azonos mintából — 15-15 párhuzamos mérést végeztünk. A fotometrálnál kapott extinkcióértékeket a regressziós egyenlet segítségével száza-

2. TÁBLÁZAT

Krémtúró fehérjetartalmának meghatározása spektrofotometriáson és Kjeldahl szerint

Sorszám	Extinkció	Fehérjetartalom % (számított)	Fehérjetartalom % (Kjeldahl szerint)
1.	0,760	11,20	11,24
2.	0,780	11,45	11,24
3.	0,780	11,45	11,28
4.	0,770	11,32	11,20
5.	0,765	11,26	11,22
6.	0,760	11,20	11,20
7.	0,760	11,20	11,23
8.	0,775	11,39	11,45
9.	0,760	11,20	11,40
10.	0,770	11,32	11,24
11.	0,760	11,20	11,25
12.	0,755	11,14	11,20
13.	0,755	11,14	11,18
14.	0,780	11,45	11,30
15.	0,760	11,20	11,50
		Átlag: 11,27 Szórás: ±0,031	10,60 ±0,056

SPECTROPHOTOMETRIC DETERMINATION OF PROTEIN CONTENTS OF CURD VARIETIES IN THE ULTRAVIOLET REGION

E. Gábor

The essence of the procedure is that the protein content of the substance to be examined is dissolved completely in appropriate reagents. For preparation of a solution with suitable protein concentration, a suspension is first prepared from the curd with alkali solution. Acetic acid and chloroform are added to a known amount of this. The extinction corresponding to the protein content of the resulting crystal-clear solution is measured at a wavelength corresponding to an absorption maximum of the protein. (This may be established by spectrum recording on the same solution.) From the measured extinction the protein content of the curd is read off a linear calibration plot. For the construction of this, three curd — sand samples with known compositions are prepared; after thorough homogenization, the extinctions are measured in the above way, and the protein contents of the samples are determined by the Kjeldahl method. Related pairs of values are plotted in a coordinate system. The calibration line need be recorded only once for each product under given photometric conditions. Mathematical calculations confirmed the necessary accuracy of the new method. It is essentially faster than protein determination by the Kjeldahl method.

Spektrophotometrische Bestimmung des Eiweissgehaltes von Quarkarten im Ultraviolettbereich

E. Gábor

Das Wesen des Verfahrens ist, dass der Eiweissgehalt des zu testenden Materials in entsprechenden Reagenzien restlos aufgelöst wird. Zur Bereitung der entsprechend eiweisskonzentrierten Lösung wird zunächst mit Lugollösung eine Suspension aus dem Quark hergestellt und eine bekannte Menge davon mit Essigsäure und Chloroform versetzt. Die dem Eiweissgehalt der so gewonnenen kristallklaren Lösung entsprechende Extinktion wird bei der dem Absorptionsmaximum des Eiweisses entsprechenden Wellenlänge gemessen. (Dies kann aus derselben Lösung mittels Spektralaufnahme festgestellt werden.) Aus dem gemessenen Extinktionswert kann auf den Eiweissgehalt des Quarkes mit Hilfe einer Kalibrationsgeraden geschlossen werden. Zu ihrer Aufnahme werden drei Testproben bekannter Quark-Seesand-Zusammensetzung verglichen, nach gründlicher Homogenisierung die Extinktionswerte auf die obige Weise ermittelt und der Eiweissgehalt der Proben nach Kjeldahl bestimmt. Die zusammengehörigen Wertpaare werden am Koordinatensystem dargestellt. Die Kalibrationsgerade muss unter den gleichen photometrischen Umständen für eine Art Produkt nur einmal aufgenommen werden. Die mathematischen Berechnungen haben bewiesen, dass die Methode von hinreichender Genauigkeit und wesentlich schneller ist als die Eiweissbestimmung nach Kjeldahl.

Спектрометрическое определение содержания белка в твороге в ультрафиолетовой области

E. Габор

Сушность метода состоит в том, что весь белок исследуемого материала растворяется в соответствующем реагенте. Для получения раствора с соответствующем концентрацией белка сначала из творога путём добавления раствора щёлочи приготавливали суспензию. К определённому отмеренному количеству этой суспензии добавляли уксусную кислоту и хлороформ. Экстинкцию, соответствующую содержанию белка полученного таким образом кристалльно чистого раствора, измеряли при длине волны, соответствующей абсорбционному максимуму белка. (Это можно установить из того же раствора спектральной съёмкой). На основании измеренных показателей экстинкции с помощью калибрационной прямой можно сделать вывод относительно содержания белка в твороге. Для получения этой калибрационной прямой мы отмеряли навески анализируемых проб известного состава смеси творог — морской песок и после тщательной гомогенизации описанным выше методом определяли показатели экстинкции, а затем определяли содержание белка по калдалю. Соответствующие пары показателей отражали в системе координат. При одних и тех же фотометрических условиях для одного определённого вида продукта калибрационную прямую надо определять только один раз.

Математические расчёты подтверждают, что новый метод обеспечивает достаточную точность. В то же время он является намного более быстрым, чем определение содержания белка по Келдалю.