

Tápszerek triptofántartalmának változása hőkezelés hatására

ÖRSI FERENC és HOLLÓSY JUDIT

Budapesti Műszaki Egyetem Biokémiai és Élelmiszertechnológiai Tanszék

Érkezett: 1983. június 20.

A tápszerek biológiai értékének megítélésében fontos szerepe van az aminosav-összetételnek, ezen belül is kiemelt jelentőségű az esszenciális aminosavak mennyisége. A triptofán azon esszenciális aminosav, amelynek meghatározása nem végezhető el a fehérje savas hidrolizátumból, mivel savas körülmények között érzékeny yűrűje elbomlik, ezért meghatározására lúgos és enzimés hidrolizátumból, ill. módosított savas hidrolizátumból számos módszert dolgoztak ki.

Korábban beszámoltunk (2) a Holz (1) által kidolgozott módszer adaptálásáról Contiflo analízátorra, és azóta is sikerrel alkalmaztuk lúgos hidrolizátumokban triptofán meghatározásához.

Jelen közleményünkben a módszer paramétereit a „Linolac” tápszer triptofán meghatározásához optimálisra állítottuk be és segítségével vizsgáltuk a tápszer hőkezelés hatására bekövetkező változásait, valamint a nedvességtartalom hatását 40 °C hőmérsékleten végzett tárolás során a tápszer triptofántartalmára.

Anyagok és módszerek

A vizsgálatokhoz az EGYT Lacta Tápszergyár Linolac tápszerét használtuk el. A triptofán meghatározásához Koch – Light Ltd gyártmányú p – N, N-dimetil-mino-fahéjaldehid reagenst alkalmaztunk. Standard triptofán oldatként Reanal gyártmányú DL-triptofánból készítettünk oldatot.

A fehérjeminta hidrolízise

Kb. 60 mg fehérjének megfelelő tápszert kémcsőbe mértünk, 10 cm³ 4 mol/dm³ koncentrációjú nátriumhidroxid oldatot adtunk hozzá, 5 perces nitrogén átbuboréoltatással levegőmentesítettük és leforrasztottuk. A hidrolízist 105 °C hőmérsékleten 16 órát végeztük. A hidrolízis befejezése után a kémcsöveket felnyitottuk, 10 cm³ 4 mol/dm³ koncentrációjú kénsavoldattal megsavanyítottuk és 25 cm³-es ormál lombikban jelig töltöttük. Szűrés után a mintákból azonnal elvégeztük a meghatározást.

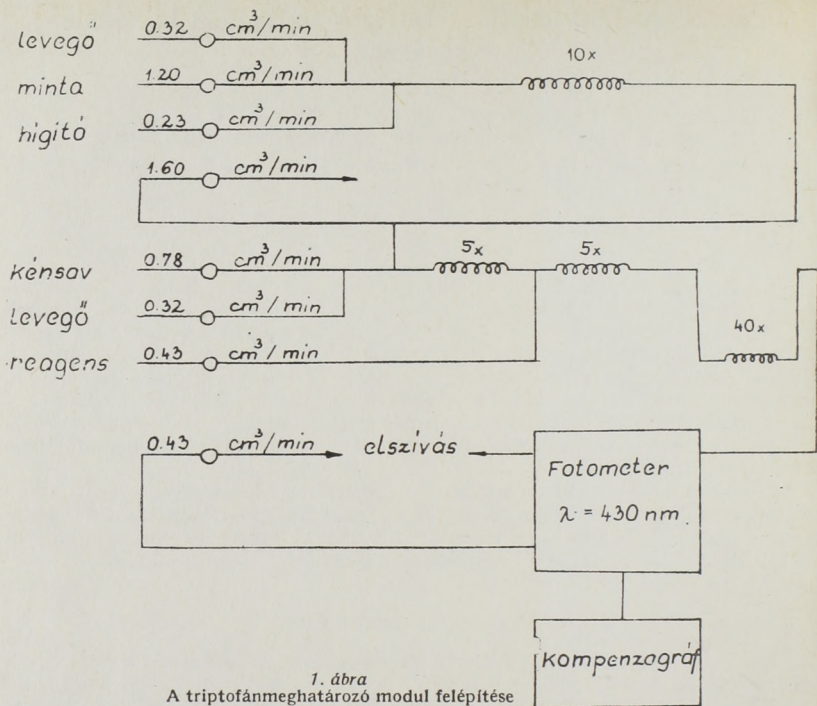
A triptofán meghatározása Contiflo automatikus analízátorral

A triptofán meghatározásához szolgáló modult a Labor MIM által gyártott szszukor-meghatározó (OL – 734) modul átalakításával készítettük és az 1. ábrán mutatjuk be.

A szükséges reagensek a következők:

Hígító oldat: 0,2 cm³ 0,3 g/cm³ koncentrációjú Brij 35 (BDH Ltd gyártmány) detergens vizes oldatot adunk 1 liter desztillált vízhez.

Kénsavoldat: 7 térfogat koncentrált kénsavat 3 térfogat desztillált vízzel hígítunk. Az így kapott kénsavoldat kb. 78% (m/m) koncentrációjú.



1. ábra
A triptofánmeghatározó modul felépítése

Reagens oldat: 0,5 mg/cm³ p-N, N-dimetilamino – fahéjaldehid 1 mol/dm³ koncentrációjú kénsavoldatban. Szobahőmérsékleten 2–3 hétig tartható el.

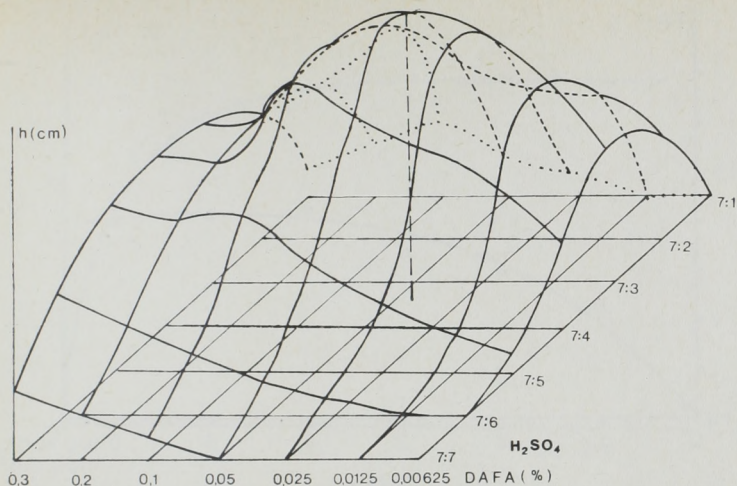
A modul működése

A vizsgálandó mintát detergens tartalmú vízzel hígítjuk, majd egy kis hányadát a kénsavhoz keverjük és ehhez az elegyhez adjuk a reagenstartalmú kénsavoldatot. A szinkialakulás szobahőmérsékleten megy végbe és a kialakuló szín intenzitását a fotómeterben 430 nm-en mérjük. A mérés 40 minta/óra sebességgel 2 : 1 szívás : mosás aránnyal megy végbe. A DL-triptofánból 0 – 120 mg/dm³ koncentráció-tartományban készítettünk standard sorozatot a kalibrációs görbe felvételéhez. A lineáristól észrevehető eltérés csak 100 mg/dm³ feletti koncentráció-tartományban volt.

A párhuzamos mérések variációs koefficiense 1,62%. A fenti bemérés esetén a minimálisan kimutatható triptofán tartalom 0,05%.

A tápszerminták nedvességtartalmának meghatározása

A tápszerminták nedvességtartalmát a 20–250 °C tartományban felvett termogravimetriás görbéről olvastuk le. A felvételt 500 mg bemérés mellett tálcás mintatartóval 5 °C/min felfűtés mellett végeztük. A nedvességtartalom 170 °C-ig távozott a mintákból.



2. ábra
Az optimalizálás mérési eredményei

A tápszerminta hőkezelése

A tápszerből 500 mg-ot mértünk be kémcsőbe és KUTESZ gyártmányú alumínumblokk kémcsőtermosztátban hőkezeltük 40–60–80 és 100 °C hőmérsékleten 4–7 órán keresztül, majd közvetlenül ráértük a szükséges mennyiségű hidrolizáló lúgot és a triptofán-meghatározást elvégeztük. Minden esetben három párhuzamos mintát vizsgáltunk.

A tápszerminták tárolása

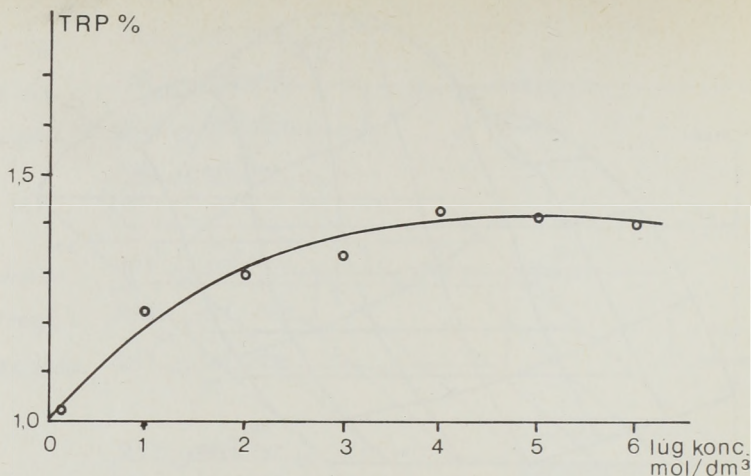
A tápszerből 50 g-os mennyiségeket 5 liter térfogatú exikátorokban tároltuk, amelyekben 2 liter kénsavoldattal állítottuk be (4) a kívánt relatív páratartalmat. Az 1. táblázatban összefoglaltuk a vizsgált páratartalom-értékeket és a beállításhoz szükséges kénsav-koncentrációt.

Az exikátorokat a mintákkal együtt 40 °C hőmérsékletű vízköpenyes biológiai termosztátban (Labor MIM gyártmány) tároltuk. A mintákból minden második nap alapos összekeverés után három 500 mg-os mintát vettünk és triptofán tartalmát az előzőekben leírtak szerint meghatároztuk.

1. táblázat

Az ERP értékek beállításához használt kénsav-koncentráció

ERP %	Kénsav-koncentráció % (m/m)
0	96
40	48
80	27



3. ábra
A triptofántartalom függése a lúgkoncentrációtól

Eredmények

A vizsgálati körülmények optimalálása

Vizsgálataink első lépéseként a meghatározási módszer kritikus paramétereit (hidrolizáló lúg koncentrációja, hidrolízis idő, kénsav- és reagenskoncentráció) vizsgáltuk meg.

A 2. ábrán a kénsav-koncentráció és a p-N, N-dimetilamino-fahéjaldehid reagens koncentrációjának hatását mutatjuk be a 60 mg/dm³ koncentrációjú triptofán standard oldat felhasználásával mért csúcsmagasságra.

Az ábra alapján 7 : 3 kénsav : víz térfogatarányban hígított sav és 0,5 mg/cm³ p-N, N-dimetilamino-fahéjaldehid koncentráció bizonyult optimálisnak és a továbbiakban ebben a koncentrációban alkalmaztuk.

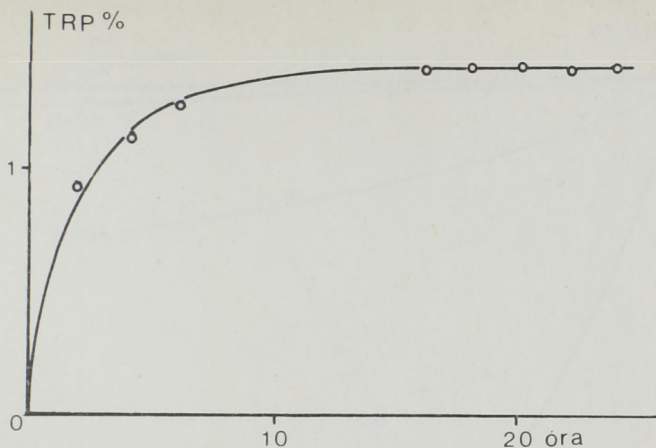
A hidrolízishez használt lúg koncentrációjának vizsgálatára 0,1–6 mol/dm³ koncentrációtartományban végeztünk 20 órás hidrolízist ugyanazon tápszermintával és a 3. ábrán a lúgkoncentráció függvényében ábrázoltuk a mért triptofántartalmat. Az ábra alapján a 4 mol/dm³ koncentráció megfelelőnek bizonyult.

A hidrolízisidő hatásának vizsgálatára 0–30 óra tartományban végeztünk hidrolízist ugyanazon tápszermintából és a 4. ábrán a mért triptofántartalmat a hidrolízisidő függvényében ábrázoltuk. Az ábra azt mutatja, hogy 16 óra hidrolízis idő megfelelő és így a továbbiakban ezt használtuk.

Hőkezelés hatásának vizsgálata

A termosztátban 40, 60, 80 és 100 °C-on hőkezelt minták triptofán tartalmának változását az 5. ábrán mutatjuk be. A triptofántartalom csökkenése egyértelmű és a hőmérséklettel növekvő sebességgel megy végbe.

Dworschák (3) vizsgálatai szerint tápszerekben a triptofántartalom változása elsődrendű reakciókinetika szerint megy végbe, ezért mi is elsődrendű kinetikus modellel kíséreltük meg adatainkat feldolgozni.



4. ábra
A triptofántartalom függése a hidrolízisidőtől

A mérési eredményeinket az elsőrendű reakciókinetikus egyenletnek megfelelő

$$\ln(C_{TRP}) = \ln C_0 - kt$$

- C_{TRP} = a triptofán koncentráció
 C_0 = t a triptofán koncentrációja
 v = 0 időpontban
 k = reakció sebességi állandó min^{-1}
 t = idő perc.

összefüggéssel közelítettük és a modell paramétereiket a legkisebb négyzetek módszerével határoztuk meg.

A számított és mért értékek igen jó egyezést mutattak, az összefüggés szoroságára jellemző korrelációs koefficiens minden esetben 0,94 felett volt.

A 6. ábrán a kiszámított reakciósebességi állandó logaritmusát a Kelvinben mért hőmérséklet reciprokának függvényében ábrázoltuk. A pontok egyenes körül helyezkednek el, vagyis a reakció hőmérsékletfüggését az Arrhenius egyenlet írja le. A pontokat legjobban közelítő egyenes egyenletét ugyancsak a legkisebb négyzetek módszerével meghatároztuk. Az egyenes meredekségéből az aktiválási energiát számítottuk ki a következő összefüggéssel.

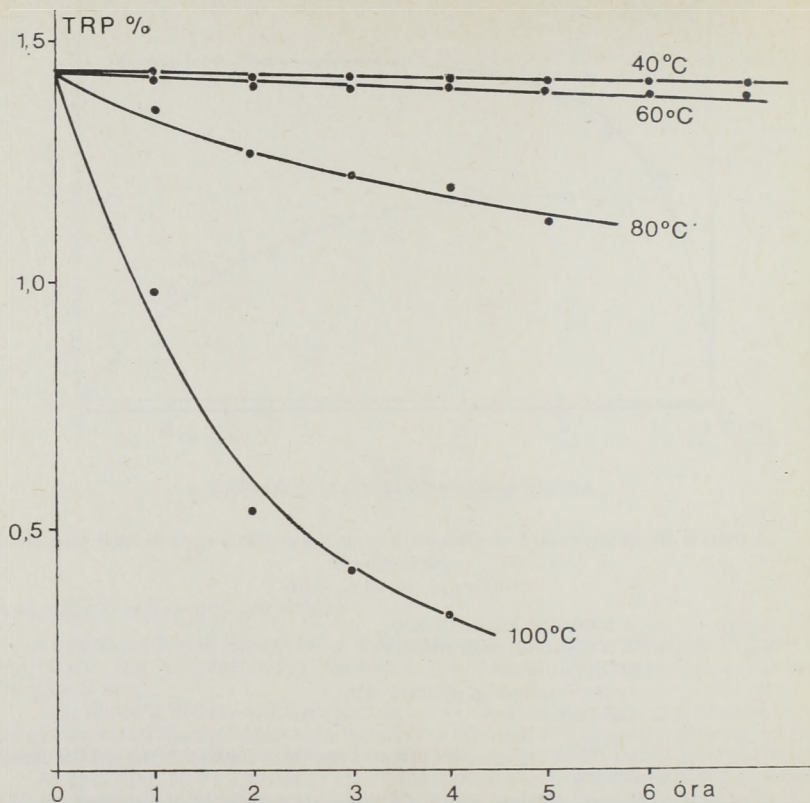
$$H = R \cdot m$$

ahol m = a meredekség K

R = a gázállandó $\frac{\text{kJ}}{\text{mol K}}$

H = aktiválási energia kJ/mol

A kapott egyenlet alapján $H = 106 \text{ kJ/mol} \pm 6,88$ aktiválási energiával megy a triptofán bomlása. A kapott reakciókinetikus paraméterek lehetővé teszik a triptofánbomlásnak becsülését tetszés szerinti hőmérsékleten.



5. ábra
A hőkezelések mérési eredményei

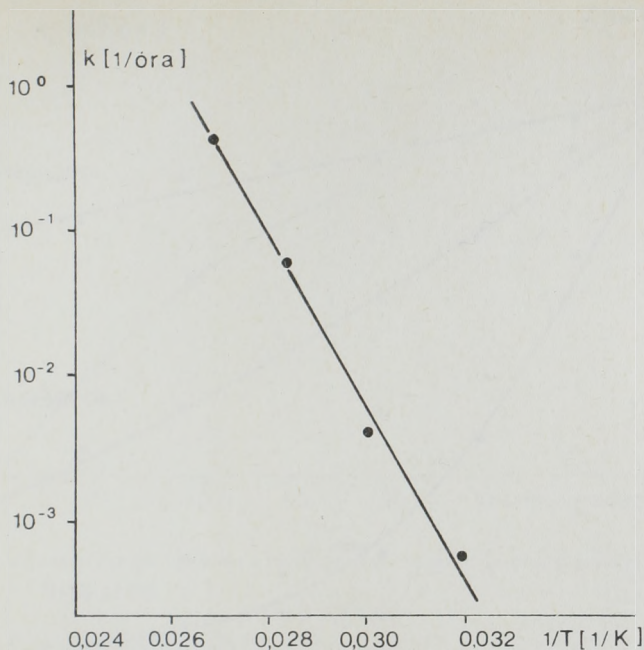
Nedvességtartalom hatásának vizsgálata a triptofán bomlására

A triptofán bomlását a Linolac tápszerben 40 °C hőmérsékleten, 0, 40 és 80% relatív páratartalmú térben vizsgáltuk.

A 7. ábrán a kéthetes tárolás során megfigyelt triptofánváltozásokat tüntettük fel a különböző nedvességtartalmú légtérrel biztosító exikatorokban.

Az 5. ábráról látható, hogy a hőkezelés hatásakor hasonló csökkenő görbéket kapunk, amelyek az elsőrendű kinetikus modell szerinti változásnak felelnek meg. A kiszámított reakciósebességi állandó nagyobb volt a nem tárolt, csak hőkezelt minták esetében megfigyelt értékekhez képest.

A reakciósebességi állandó növekedése feltevéssünk szerint abból származik, hogy a nagyobb nedvességtartalmú térben a felvett víz miatt a reakciókomponensek mozgékonyasága megnövekszik, és ennek következtében a reakció aktiválási energiája csökken. Az eredeti és nagy nedvességtartalmú térben mért sebességi állandóból az aktiválási energiacsökkenés a következő összefüggéssel számolható:

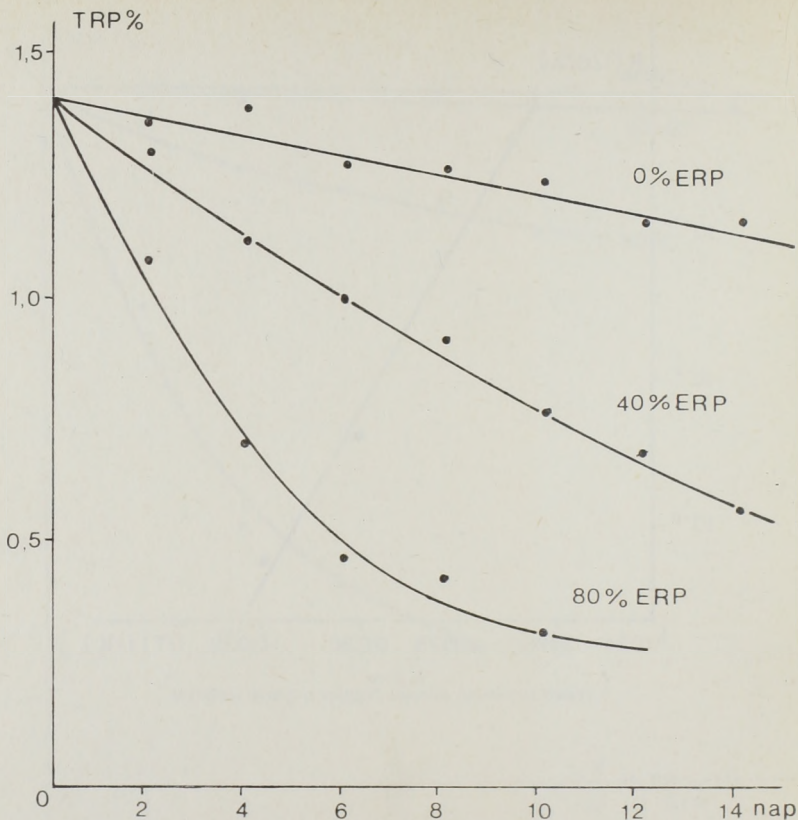


6. ábra
A reakciósebességi állandó függése a hőmérséklettől

$$\Delta H = RT \ln \frac{k}{k_0}$$

ahol: k = a nedves térben 40 °C-on mért reakciósebességi állandó min^{-1}
 k_0 = a nem tárolt mintánál mért reakciósebességi állandó min^{-1}
 R = gázállandó kJ/mol K
 T = 313 K

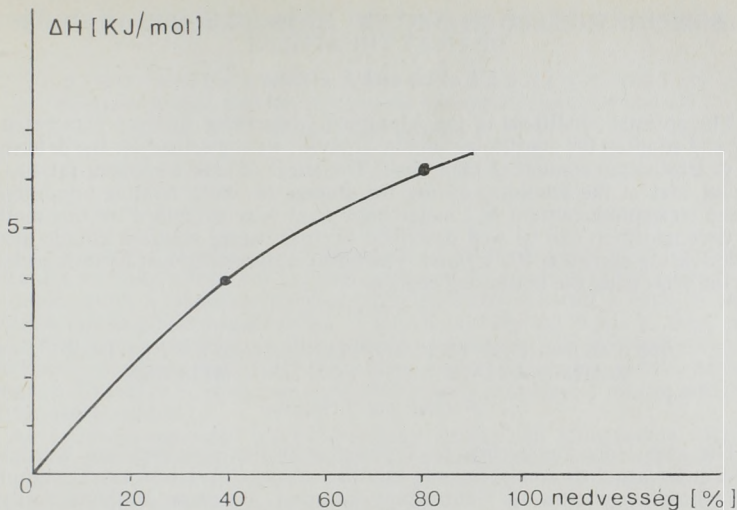
A 8. ábrán az aktiválási energiacsökkenés mértékét a tárolási relatív páratartalmának függvényében mutatjuk be. Látható, hogy a páratartalom növekedésével az aktiválási energia csökken és kb. 10% páratartalom-növekedés 0,8 kJ/mol aktiválási energiacsökkenést okoz. Irodalmi eredmények alapján várható, hogy a nedvességtartalom további növekedésével az aktiválási energia csökkenése megáll és a reakció sebessége ismét csökken. Az adatok valóban azt mutatják, hogy a 0–40% között az aktiválási energiacsökkenés nagyobb volt, mint 40–80% páratartalom között. Mivel a csecsemőtápszerben a hosszú tárolás során a triptofán elbomlása jelentős lehet a bomlás számára kedvezőtlen körülmények között is, a bomlási folyamat modellje ennek pontos becslését teszi lehetővé. Ez annál is jelentősebb, mivel az anyatejhez képest a triptofántartalom kisebb, 1,9% helyett 1,4% és ez még a tárolás során tovább csökkenhet.



7. ábra
A tárolási kísérlet mérési eredményei

Összefoglalás

A korábban Holz által kidolgozott és Contiflo automatikus elemzőn adaptált triptofán meghatározási módszert a tápszer triptofántartalmának meghatározására optimalták. Ezen módszerrel a hőkezelés (40–100 °C hőmérsékleten) és tárolás alatti nedvességtartalom (0–80% relatív páratartalom) hatását vizsgálták a Lino-lac tápszer triptofántartalmára. A bomlás elsődrendű reakciókinetikus modellel jól leírható, aktiválási energiája 105 kJ/mol. A nedvesség hatását, mint az aktiválási energiát csökkentő tényezőt tudták értelmezni.



8. ábra

Az aktiválási energia változása a tárolótér relatív páratartalmának függvényében

I R O D A L O M

- (1) Holz, F.: Landw. Forsch. 27, 96, 109, 1972.
- (2) Órsi, F., Zsigmond, A.: Triptofán meghatározása Contiflo analízátorral. MTA, MÉTE, KÉKI kollokvium előadás. 1980.
- (3) Dworschák, E.: Szénhidrátok és aminosavak reakciói élelmiszerekben hevítés hatására. Kandidátusi értekezés. Budapest, 1976.
- (4) Perry, J. H.: Vegyészmérnökök kézikönyve. Műszaki Kiadó, Budapest 1968.

ИЗМЕНЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ ТРИПТОФАНА В ПРОДУКТАХ ДЕТСКОГО ПИТАНИЯ ПОД ДЕЙСТВИЕМ ТЕРМООБРАБОТКИ

Ф. Ёрши и Я. Холлоши

Авторы оптимизировали разработанный ранее Хольцом и адаптированный автоматическим анализом Контифло метод определения триптофана для определения содержания триптофана в продуктах детского питания.

Этим методом испытывалось действие термообработки (40–100 °C) и также действие влаги в период хранения (0–80% относительного содержания влаги) на содержание триптофана в продукте детского питания «Линолак».

Разложение хорошо можно описать моделью кинетической реакции, активирующая энергия — 105 кJ/моль

Авторы смогли объяснить действие влаги, как фактор снижения активирующей энергии.

CHANGES IN TRIPTOPHAN CONTENT OF BABY FOODS AS AN EFFECT OF HEAT TREATMENT

F. Örsi and J. Hollósy

The optimal conditions of the triptophan determining method elaborated by Holz and adapted for Contiflo automatic analyser were specified for the determination of triptophan content of baby food. The effect of heat treatment (at 40–100 °C) and that of the humidity during the storage (0–80% relative humidity) on the the triptophan content of Linolac baby food were examined by this method. The decomposition can be well described by first degree reaction kinetic modell, the activating energy is 105 kJ/mol. The effect of humidity can be interpreted as a factor decreasing the activating energy.

ÄNDERUNG DES TRYPTOPHANGEHALTES BEI DER WÄRMEBEHANDLUNG VON NÄHRMITTELN

F. Örsi und J. Hollósy

Die von Holz ausgearbeitete Tryptophanbestimmungsmethode wurde mit einem automatischen Analysengerät Contiflo durchgeführt und zur Bestimmung des Tryptophangehaltes des Nahrungsmittels optimiert. Mit dieser Methode wurde die Wirkung der Wärmebehandlung (im Temperaturbereich von 40–100 °C) und des Feuchtigkeitsgehaltes während der Lagerung (bei einer relativen Luftfeuchtigkeit von 0–80%) auf den Tryptophangehalt des Nahrungsmittels Linolac untersucht. Die Zersetzung kann mit einem reaktionskinetischen Modell erster Ordnung gut beschrieben werden, die Aktivierungsenergie beträgt 105 kJ/mol. Der Einfluß des Feuchtigkeitsgehalts konnte als ein die Aktivierungsenergie vermindender Faktor interpretiert werden.