

Az élelmiszeranalitika új útjai*

JASCHIK SÁNDOR

Országos Élelmezés- és Táplálkozástudományi Intézet, Budapest

Érkezett: 1955. szeptember 12.

Először röviden szeretnék rámutatni azokra az irányelvekre, amelyek ma befolyásolják az élelmiszeranalitikát. Rá szeretnék mutatni, hogy ezeket az irányelveket az élettani, általános táplálkozástani és az anyagcserére vonatkozó ismereteink kibővítése hozta létre. Számptalan új anyagot ismertünk meg, amelyek rendkívül fontosak az emberi szervezet számára. Ezeknek az anyagoknak kimutatására és meghatározására szolgáló analitikai eljárások alakultak és fognak továbbfejlődni, amelyekről általánosságban szeretnék csak beszélni. Valamivel részletesebben szeretnék foglalkozni azonban három olyan analitikai területtel, amelyek ma igen hasznosak, s továbbra is sok reménnyel kecsegtetnek. Ez a három terület: a spektroszkópia, polarográfia és kromatográfia.

A múlt században egyrészt élettani vonalon kiváló tudósok, mint *Pettenkofer*, *Voit*, *Rubner* és mások munkássága alapján, másrészt kémiai vonalon *Liebig*, *König* és több neves vegyész munkái révén, nagy statisztikai adathalmazra támaszkodva kialakult a *tápanyag* fogalma. Előtérbe lépett a fehérjék, szénhidrátok és a zsírok jelentősége. Mérték kezdi a tápanyagokat az élelmiszerekben és különféle élettani kísérletekkel igyekeztek megállapítani azt is, hogy a tápanyagok milyen fajtájára s milyen mennyiségére van szüksége az emberi szervezetnek. *Rubner* kimondja az izodinámia törvényét. Kialakul a kalóriatan. Felisme-

* A Magyar Tudományos Akadémia VII. Kémiai Osztálya „Mezőgazdasági és Élelmiszeripari Főbizottsága” előtt elhangzott előadás. (Szerk.)

rik az ásványi anyagok jelentőségét. Ezekkel az ismeretekkel alapozzák meg az anyagcserére vonatkozó elgondolást s kimondják, hogy a táplálék akkor jó, ha az fehérjét, zsírt, szénhidrátot megfelelő mennyiségben tartalmaz és ellátja a szervezet energia-szükségletét.

Egyidejűleg kialakultak a fehérjék, zsírok, szénhidrátok kimutatására és meghatározására szolgáló módszerek. Az első világháború alatt s után sok helyen fellépő különös megbetegedések felülvizsgálata kétségtelenül bebizonyította, hogy táplálkozási hiánybetegségekről van szó. Megállapították, hogy az egészség fenntartásához nem elég csak az energiát adó és testet építő, tehát fehérjét, zsírt és szénhidrátot tartalmazó táplálék, hanem olyan, bár kicsi mennyiségű, de reakcióképes anyagokra is szüksége van a szervezetnek, amelyek az anyagcserét kormányozzák, a szintéziseket vagy leépítéseket katalizálják, vagy bármi más módon befolyásolják. Ezeket az anyagokat az ún. vitaminokat az emberi szervezet nem tudja előállítani s arra szorui, hogy a táplálékkal megkapja. Egyre-másra fedezik fel a vitaminokat és aktivátorokat, amelyeknek száma *Scheinert* szerint meghaladja az ötvenet és valószínű, hogy nem ismerjük valamennyit.

A vitaminok kimutatására és meghatározására szolgáló különböző metodikák ma még nem tökéletesek. Ezeknek javítása és új metodikák beállítása egyre folyik.

Egyidőben a vitaminokra vonatkozó vizsgálatokkal kialakult az a nézet is, hogy a legfőbb három tápanyagot, a fehérjét, zsírt és szénhidrátot is differenciálni kell. Élettani vizsgálatokkal megállapították, hogy különbséget kell tenni fehérje és fehérje, zsír és zsír, szénhidrát és szénhidrát között és nem elegendő, hogy e három tápanyag értékét kalóriában kifejezve hozzuk közös nevezőre. Előtérbe lép az a követelmény, hogy a fehérje helyes értékelése szempontjából ismernünk kell összetételét, ismernünk kell a zsírokban levő telítetlen, ún. esszenciális zsírsavak milyenségét és mennyiségét. Immun-kémiai megfontolások alapján egyes esetekben a cukrok differenciálására is szükség van. Előtérbe lépett a mikro-mennyiségű elemek jelentősége is. Különösen a jód és fluor kérdés jutott előtérbe.

Eljutottunk odáig, hogy az ember táplálkozására vonatkozó eddigi sztatikus szemléletünket dinamikus szemlélet váltsa fel. Tehát egy élelmiszer tápértékének megállapításához nem elegendő csak analitikai összetételének ismerete, hanem abból a

szempontból is meg kell ítélnünk, hogy milyen szerepet fog játszani a szervezet általános anyagcseréjében.

Élelmiszereink összetétel szempontjából mindig igen sok komponens, igen sok anyag keverékei. Az egyes komponensek koncentrációja is rendszerint változó. Nem csoda tehát, hogy az élelmiszeralitikusok régebben, de ma is, legtöbbször nem is a legfontosabb alkotórészek, hanem csupán egy bizonyos csoport meghatározására szorítkoztak. Megállapították pl. az összes nitrogént, az éteres extraktot, a titrálható savat, stb.

Élelmiszereink értékelése szempontjából sok esetben már nem elégedhetünk meg csak a csoportok megállapításával. Az élelmiszerben levő fehérjét pl. nem lehet csupán az összes nitrogén megállapításából kiértékelni. Az analitikusra hárul az a feladat, hogy megállapítsa a tiszta protein mennyiségét, annak aminosav összetételét, a szabad aminosavakat s más nitrogéntartalmú vegyületeket, hogy megállapítsa a zsírokban levő telítetlen és az esszenciális zsírsavakat és az analitikusra hárul az a nagy feladat is, hogy ha nincs, hát dolgozzon ki módszereket ezeknek az anyagoknak kimutatására és meghatározására.

Az élettani kémia ma nagyjában, de inkább csak körvonalaiiban fel tudja vázolni az aktivátorok segítségével a protein, zsír és szénhidrát között lezajló anyagcsere szövetéjét. Nagyjában ismeri ebben az anyagcserében beépült és beépülésre váró intermedier állapotú vegyületeket. E vegyületek között fellelhető az allantoin, aszparagin, aminosavak és igen nagyszámú szerves sav, mint a tejsav, piroszőlősav, oxálecetsav, acetecetsav, alma-, fumar-, borostyánkő-, citrom-, izocitromsav, stb.

A fent említett anyagok jelenléte növényi vagy állati eredetű élelmiszereinkben tehát élettanilag megmagyarázott és az élelmiszer analitikusnak kutatómunkája közben számolni kell jelenlétükkel.

Az élelmiszertechnológiával foglalkozó vegyészre is számtalan probléma megoldása vár. Az élelmiszerül szolgáló állati vagy növényi szervezet összetétele nagyjából csak addig változatlan, amíg a szervezet él. Ha az állatot leöljük, vagy pl. a burgonyát feldaraboljuk, reakciók indulnak meg, amelyek az élelmiszer összetételét rövidebb vagy hosszabb idő alatt megváltoztatják. Egyes enzimek működése háttérbe szorul vagy abbamarad, mások működése nagymértékben kifejlődik. A vegyésznek tehát ismernie kell a már nem élő állapotban állandó változáson keresztülmenő élelmiszerben lejátszódó folyamatokat, mert csak ezek ismeretében tudja az élelmiszernek s az azokból készült

gyártmányoknak színét, ízét, zamatát, vitaminjait és tápanyagait megőrizni a tárolás és feldolgozás alatt.

E feladatokhoz, amelyeket inkább a táplálkozásban diktál, hozzájárulnak még azok a feladatok is, amelyek a vegyész kötelességévé teszik, hogy megállapítsa, nincs-e az élelmiszerben a helytelen tárolás, feldolgozás folytán, gondatlanságból, vagy esetleg bűnös szándékkal hozzákeverődött vagy hozzákevert olyan ártalmas anyag vagy mérgező, amely a fogyasztók egészségét, vagy olyan értéktelen ballaszt-anyag, amelyet hamisítók kevertek bele, amely viszont zsebét veszélyezteti.

Ilyen sok feladat elvégzéséhez igen sok módszerre és analitikai eljárásra van szükség. A módszerek legnagyobb része kémiai vagy fizikai, de a vegyész sokszor felhasználja a mikroszkópot, továbbá igénybeveszi a biológiai és élettani módszereket is.

A sok módszer közül, amint már a bevezetőben mondtam, csak három területet szeretnék röviden érinteni. Mind a három módszer fizikai. Segítségükkel már sok probléma oldódott meg és sokirányú felhasználhatóságuk folytán az élelmiszer-analitikusnak nagy segítségére lehetnek.

Az első módszer a színképelemzés módszere. Két formában tudjuk felhasználni. Elemek kimutatására és meghatározására az emissziós analízist használjuk. Azokat az elemeket, amelyek színképek kibocsátására könnyen gerjeszthetők, mint pl. az alkáli és az alkáli földfémek, oldatuknak a lángba való porlasztásával figyeljük meg spektroszkópon vagy fotografikus úton rögzítjük színképeiket spektrográfon. Az alkáli és a földfémek gyors meghatározására kiváló láng spektrofotométereket szerkesztettek. Nehezebben gerjeszthető elemeknek színképét ívfényben, vagy szikrakörben idézzük elő. Az ívfényben készült spektrumok általában egyszerűbbek, mert csak atomvonalakat tartalmaznak. A szikrakörben gerjesztetteké ezzel szemben vonalakban dúsabb, mert abban az egyszer vagy többször ionizált fémek színképe is megjelenik. Általában egy elem jelenlétét egy vagy két vonalának pontos identifikálásával meg lehet állapítani. Az elem mennyiségének pontos meghatározása is lehetséges emissziós analízis útján, rendszerint úgy, hogy a kérdéses elem analitikai vonalának intenzitását spektrumvonal kiértékelő fotométeren kimérjük és hasonlítjuk egy segédelem valamely kijelölt vonalának intenzitásához. Különösen nyomelemek meghatározására szolgál ez a kiváló módszer, amit legújabban még azzal is finomítottak, hogy a fémeket oldatukból ditizzonnal kivonják és így feldúsítják. A színképelemzés másik módja az abszorpciós módszer, mellyel

színes anyagok fényelnyelő képességét vizsgáljuk és megállapítjuk a spektrum egy, vagy több helyén fellépő maximális elnyelés hullámhosszát. Ezek a maximumok jellemzőek az anyagra. Ez az alapja sok kolorimetriás módszerünknek. De nemcsak a színes anyagok okozta abszorpciót tudjuk mérni, hanem olyan, különben színtelen oldatot adó vegyületekét is, amelyek molekulájában olyan atomcsoportok vannak, melyek abszorpciót idéznek elő. A méréseket régebben nagy fáradsággal járó egymásután következő fényképfelvételekkel tudtuk megoldani, ma azonban spektrofotométerek állnak rendelkezésünkre, amellyel minden hullámhosszon gyorsan meg tudjuk mérni az anyag elnyelő képességét és fel tudjuk venni az elnyelési görbéket. Legutóbb a zsírok vizsgálatánál használtuk eredménnyel ezt a módszert, amikor is a telítetlen zsírsavakat tudtuk meghatározni izomerizáció után, azaz olyan eljárás után, amikor az izolált kötésű zsírsavak konjugált kötésű zsírsavakká alakultak s mint ilyenek, már jellegzetes elnyelési görbét adtak.

A polarográfiának úgy elméleti, mint gyakorlati alapjait 1922-ben *Heyrovský* cseh fizikus dolgozta ki. A módszer lényegében elektroanalízis. A módszernél a vizsgálandó oldatot egy kifelületű csepegő higanykatód és egy nagyfelületű higanyanód között egyenletesen emelkedő feszültséggel elektrolizáljuk és az átfolyó áram intenzitását a feszültség függvényében ábrázoljuk. Az áramfeszültségi görbe az ún. polarogram, minőségi és mennyiségi kiértékelésre alkalmas. A polarografálást mindig egy hozzáadott vezető elektrolit jelenlétében végezzük, hogy az ionok elektrosztatikus vonásaiból vagy taszításából származó zavarokat kiküszöböljük. A kész polarogramon az egyes kationokat a feszültséggörbe hirtelen emelkedésének helye, a bomlási potenciál jellemzi, mennyiségüket a lépcső magassága fejezi ki.

Polarografikusan meghatározhatók azok a kationok, melyek a csepegő elektródon fémmé, vagy alacsonyabb vegyértékű ionná redukálódnak. Meghatározhatók anionok és semleges molekulák is.

Oxidáción alapuló meghatározásokat végezhetünk, ha a csepegő elektródot anódnak kapcsoljuk. Így határozhatjuk meg pl. az aszkorbinsavat.

A módszer előnyei közé tartozik, hogy igen csekély mennyiséget tudunk vele meghatározni. A minimális koncentráció 1 gamma %. A meghatározáshoz elég 1 ml oldat. A mérést ugyanabban az oldatban számtalanszor megismételhetjük.

A harmadik módszer az előbbi kettőnél is termékenyebbnek bizonyult és további nagy reményekre is jogosít, a *kromatográfia*. Alapjait *Cvett Mihály* orosz botanikus vetette meg. Ő kalciumkarbonát oszlopot használt lipofil természetű növényi eredetű színes anyagoknak, úgymint a klorofil egyes komponenseinek és a karotinoidoknak elválasztására. A módszer az egyes anyagoknak különböző adszorbeálódó képességén alapszik egy oldószer állandó és felülről lefelé haladó mosása alkalmával. A módszer felfedezése után feledésbe merült és csak az első világháború után jutott jogos szerephez. Ez a módszer azonban kezdetben nem volt alkalmas hidrofil anyagok szétválasztására. Az akkori analitikusok éppen az aminosavak elválasztásának és meghatározásának gyors módszereit keresték és e közben *Martin* és *Singe* 12 évvel ezelőtt fedezték fel a hidrofil anyagok, tehát az aminosavak elválasztására is kitűnően használható megoszlásos kromatográfiás módszert. Az ő módszerükben az oszlop töltete vízzel telített szilikagél, melynek tetejére rákerül az elválasztandó anyagkeverék és egy vízzel telített szerves oldószerrel állandóan mossuk az oszlopot. A vízzel telített szilikagél az állófázis rögzített víztartalommal, a rendszerint organikus oldószer a mozgófázis. Az anyagok lefelé haladásukban megoszlási hányadosuk szerint, az álló és mozgófázis között kirázódva különböző sebességgel haladnak lefelé és az oszlop végéről lecsapó oldószer egymás után hozza az egyes komponenseket. Ezzel a módszerrel rendkívüli eredményeket értek el, de igazi gyakorlati jelentőségre csak akkor tett szert, amikor ugyancsak *Martin*, továbbá *Gordon* és *Consdén* felfedezték azt, hogy megoszlásos kromatográfia szűrőpapíron is kifejleszthető, mert a cellulóze a szilikagélhez hasonlóan szintén vizet adszorbeáló anyag. Idők folyamán egy harmadik kromatografáló módszer is kialakult. Itt az oszlopot ioncsérélő gyantával töltjük meg és az végzi az elválasztást, rendszerint különféle pH-jú pufferek átáramlása következtében. A kromatográfiának mind a három típusát bevezette már az élelmiszeranalitika. A kromatográfia lehetővé teszi a fehérje hidrolizátumokban levő egyes aminosavak különválasztását és jelenlétük biztos megállapítását. Lehetővé teszi a különféle szénhidrátok, savak gyors és biztos elválasztását. De e kiváló papirostechnika felhasználható alkoholok, cukrok, aszkorbinsav és reduktonok, B₁ és B₂ vitamin, purinok, nukleotidák, nukleinsavak, színező anyagok, különféle fenolok, zsírsavak, antibiotikumok, szterinek elválasztására. Kitűnő papiroskromatográfiás technikákkal rendelkezünk a szerves ionok szétválasztására

is. E módszerek közé kell sorolnunk a papíros elektroforézist is, amikor egy pufferrel itatott papíroscsík közepére helyezzük a szétválasztandó anyagok oldatát és egy párolgást meggátoló rendszerben a papíroscsík két végére elektromos feszültséget kapcsolunk, az anyagok rendszerint fehérjefrakciók, izoelektromos pontjuk szerint fognak helyben maradni, vagy pedig a pozitív, vagy negatív sarok felé haladni. A papíroscsíkot szárítás után megfelelő festékoldatba helyezzük, amikor is az egyes fehérjefrakciók intenzíven megfestődnek, s jól láthatók lesznek a kimosás után fehéren maradt papíroson.

A fehérjének aminosavtartalomra való analizéséhez, a mi körülményeink között, egyszerű kivitelezése miatt a kromatográfiás módszer látszik legalkalmasabbnak. Kiindulhatunk 10—20 mg fehérjéből is, amit 1 ml 20%-os sósavval keverve leforrasztott üvegcsőben 24 órán át tartó 100 C°-on való hevítéssel elhidrolizálunk. Az oldatot beszárítjuk és a maradékot annyi vízben oldjuk, hogy nitrogénre számítva 1%-os legyen. Rendszerint három kromatogramot készítünk *McFarren* módszerével, pufferezett papíroson, pufferrel telített oldószerekkel. Az első kromatogramot 12 pH-jú fenollal fejlesztjük ki. Ezen a kromatogramon jól kiértékelhető az aszparaginsav, glutaminsav, szerin, glikokoll, treonin és alanin. A második kromatogramot 8,4 pH-s benzilalkohol és butilalkohol keverékével fejlesztjük ki. Ezen kiértékeljük a prolint, valint, metionint, izoleucint és leucint. A harmadik kromatogram butanol-ecetsav-víz keverékével készül. Ezen kiértékeljük a lizint, hisztidint, arginint, tirozint és fenilalanint. A triptofánt, miután a savas hidrolizisnél elbomlik, a fehérjéből direkt határozzuk meg kémiai, kolorimetriás módszerrel, a cisztint pedig még a savanyú hidralizátumból polarográfiás módszerrel. A kromatogramokon megállapítjuk az egyes aminosavak jelenlétét. A kromatogramokból az egyes aminosavak mennyiségének meghatározása bizonyos megfontolások mellett eszközölhető csak. E megfontolások a következők:

a) egyes aminosavak kromatografálás közben, haladásuk alatt mennyiségükből veszítenek. E veszteségek egyes aminosavaknál tetemesek is lehetnek.

b) A veszteségek csökkennek vagy végleg elmaradnak, ha az összes aminosavak együtt haladnak.

c) Csak akkor lehet a kromatogramot kvantitatív kiértékelésre felhasználni, ha ugyanazon a papíroson egymás mellett olyan összehasonlító aminosav keveréket futtatunk, mely összetételében közel áll a vizsgált anyaghoz.

Az egyes aminosavak kimérésére vagy fotometrikus, vagy polarografikus módszert használunk. Előbbi esetben a kromatogramot ninhidrinnel hívjuk elő, majd szárítás után savanyú réznitrát oldattal permetezzük be, ekkor a lila foltok pirosra változnak. A foltokat kivágjuk és metilalkohollal kioldjuk a vörös aminosav rézkomplexet. Fotométeren kimérjük az elnyelési maximum nagyságát. Ugyanígy járunk el az ugyanazon papiros-lapon kifejlesztett összehasonlító kromatogram megfelelő aminosavjaival, melyekből rendszerint egy hígabb és egy töményebb koncentrációt futtatunk.

Második esetben nem hívunk elő ninhidrinnel, hanem U. V. fényben megállapítjuk a foltok helyét, kivágjuk és rézfoszfát emulzióval hozzuk össze, amikor is az aminosav mennyiségének megfelelően ekvivalens réz kerül oldatba. Ezt polarografikusan mérjük.

Az érintett analitikai területek módszerei, természetesen beleértve sok más új kémiai és fizikai módszert is, tág lehetőséget nyújtanak ahhoz, hogy a meghatározásokat sok új anyagra is kiterjesszük.

Amennyiben több módszer áll rendelkezésre egy anyag meghatározásához, úgy gondosan össze kell hasonlítani az elért eredményeket. Abban az esetben, ha igen sok anyagra, élelmiszerre akarjuk kiterjeszteni a meghatározásokat és ha a meghatározásokat több laboratórium végzi párhuzamosan, feltétlenül szükséges megegyezni a legalkalmasabb módszerben. A legfontosabb és legáltalánosabban elterjedt meghatározások módszereit szabványosítani kell.

Hazai élelmiszereink vitamin, kalcium, vas, foszfor, jód és fluor tartalmára közölt adataink hiányosak. A régi adatokat sok esetben nem tudjuk felhasználni, mert azok legtöbbször régi, kevésbé pontos módszerekkel történt meghatározások eredményei, vagy nem eléggé nagyszámú, különböző fejlődési állapotú, különböző termelőhelyekről, eltérő talajokról származó minták felhasználásával készültek.

Alig van adatunk a hazai termésű fehérjetartalmú növények, olajos magvainak fehérjéinek aminosavösszetételéről, pedig ez nagyon fontos lenne az élelmezéssel foglalkozók és dietetikuskok számára a helyes és komplett étrend összeállításának szempontjából.

Általában igen nagy szükségünk volna olyan műre, vagy gyűjteményre, mely rendszerbe foglalva tartalmazná élelmiszereink összetételét és amelyben a jól összeállított táblázatokban

könnnyen fellelhető volna a keresett adat. Talán az Akadémia támogatásával az egyetemi katedrák, tudományos és kísérleti intézetek bevonásával megindítható volna egy olyan akció, melynek keretén belül több évre terjedő munkával egyrészt össze lehetne gyűjteni a legmegfelelőbb módszereket és a már meglevő és még jól használható adatokat, másrészt szabványos módszerekkel el lehetne végezni a szükséges elemzéseket.

ÖSSZEFOGLALÁS:

Szerző kifejti, hogy az élettani ismeretek kibővülésével az élelmiszerekben mindig több és több anyag kimutatására és meghatározására van szükség. Különösen három fizikai módszer alkalmas e célra: a spektroszkópia, a polarográfia és a kromatográfia. Ismerteti e módszerek alkalmazását a vitaminok, fehérjék, zsírok és szénhidrátok területén.

Ш. Яшик: Новые пути аналитики пищевой промышленности

Автор разбирает, что в зависимости от расширения физиологических наук, необходимо распознавание и определение все большего числа показателей питания. Для этой цели особенно подходящие 3 физические метода: спектроскопия, полярография и хроматография. Знакомится методами применения в области испытания витаминов, белков, жиров и углеводов.

S. Jaschik: Neue Wege der Lebensmittelanalyse.

Die Erweiterung der physiologischen Kenntnisse erheischt Nachweis und Bestimmung von immer mehr und mehr Bestandteilen der Nahrungsmittel mit unumgänglicher Notwendigkeit. Für diesen Zweck eignen sich besonders drei physikalische Methoden: Die Spektralanalyse, die Polarographie und die Chromatographie. Es wird die Anwendung dieser Methoden auf dem Gebiete der Vitamine, Eiweisskörper, Fette und Kohlenhydrate besprochen.