

## Új módszer húskészítmények fehérjetartalmának meghatározására

KOVÁCSNÉ, MÁRTON PIROSKA  
Csongrád Megyei Húsipari Vállalat, Szeged

Érkezett: 1965. október 5.

Húskészítmények fehérjetartalmát húsipari laboratóriumokban általában csak számítással határozzák meg, mert a Kjeldahl szerinti meghatározásnál a roncsolás meglehetősen sok időt igényel. A számított fehérjetartalom általában megközelítő pontosságú. Előfordul azonban, hogy szükség van a fehérje pontosabb meghatározására is. Ilyenkor legtöbbször a klasszikus Kjeldahl módszert alkalmazzák. Húskészítmények inhomogén volta miatt nagyobb mennyiséget kell elroncsolni. Minthogy ez magasabb zsír és fehérjetartalom mellett hosszú ideig tart, először ennek a műveletnek megrövidítését kíséreltük meg azért, hogy egy előzetes lúgos lebontás alkalmazzunk (1). Már ennek a kidolgozásánál foglalkoztunk azzal a gondolattal, hogy a desztilláció helyett a keletkezett ammóniát alkalmas titrimetrikus eljárással határozzuk meg.

A desztilláció kiküszöbölésével számos kutató foglalkozott, részben amiatt, mert a berendezésben előforduló esetleges tömítetlenségek hibalehetőséget rejtnek magukban, részben azért, mert a desztilláció után is szükség van titrálásra. A desztilláció nélküli fehérjemeghatározásoknál leginkább a keletkezett ammóniát színreakció révén fotometráliással határozzák meg. Leggyakrabban a Nessler reakciót alkalmazzák (2). *Marcali és Rieman* (3) a desztillációt azáltal küszöbölték ki, hogy a keletkezett ammóniát formaldehid jelenlétében NaOH-val titrálták. A formoltitrálást az élelmiszerek egész sorára alkalmazzák. Az átcsapást azonban elég nehéz észlelni, ezért *Adams és Spaulding* (4) a formoltitrálást potenciometrikus titrálással kombinálták.

Más út a fehérjetartalom meghatározására az a módszer, amelynél nem az össznitrogéntartalomról következtetnek a fehérjetartalomra, hanem közvetlenül a fehérjét határozzák meg. Erre alkalmas lehet pl. a formoltitrálás, vagy a biuretreakció. Húsok és húskészítmények fehérjetartalmának meghatározására azonban ezek a módszerek nem alkalmasak.

A proteineknek azt a tulajdonságát, hogy felületükön különböző színezékeket képesek megkötni, szintén alkalmazzák mennyiségi meghatározásra (5). *Freimuth* után újabb *Meester* és *Krol* (6) alkalmazta ezt az elvet. Bár a módszer igen értékesnek látszik, húsipari laboratóriumok részére még nem alkalmas, inkább csak kutatási célra. A meghatározás ugyanis eléggé körülményes és sok időt igényel.

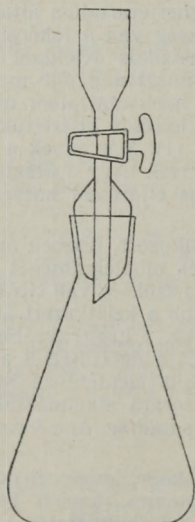
Ammóniumvegyületek ammóniatartalmának meghatározására, valamint a Kjeldahl módszer desztillációs szakaszának kiküszöbölésére régebben az ammóniát hipoklorit oldattal nitrogénné oxidálták, a feleslegben levő hipokloritot jodometriásan titrálták vissza. Hipoklorit oldatok azonban már szobahőmérsékleten is erős titerváltozást szenvednek. A visszatitrálásra néhány szerző az arzénit oldatot tartja legalkalmasabbnak (7). Hipoklorit oldat helyett többen hipobromitot alkalmazzák. Ezeknél a módszereknél a titerváltozáson kívül hiba-

lehetőséget adhat a brómvesztés is, amely az edény kinyitásánál bekövetkezhet. A brómvesztés a titerváltozás elkerülésére *Közegéi és Salgó* (8) káliumbromátot alkalmazott. Módszerüket ammóniumsók nitrogéntartalmának meghatározására dolgozták ki.

A Kjeldahl módszernél alkalmazott katalizátorok azonban az ammóniának nitrogénné való oxidációjánál zavarnak. Ennek kiküszöbölésére a roncsolásnak eddig szokásos módszerén is változtatnunk kellett.

#### A módszer leírása

Húskészítmények fehérjeteralmának meghatározására kb. 2 g finomra homogenizált mintát mérünk be. Alacsonyabb fehérjeteralmú anyagokból arányosan többet. A lemért anyagot 500 ml-es Kjeldahl lombikban 5 g  $K_2SO_4$



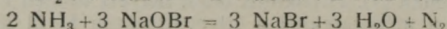
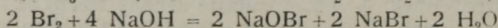
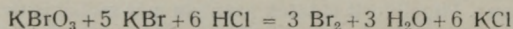
1. ábra

jelenlétében 20–25 ml kénsavval néhány percig szeszesítjük. A lángot kihúзва a lombik alól kissé hűlni hagyjuk, majd az adott bemérés esetén legálább 10 ml tömény hidrogénperoxidot adunk hozzá, közben az oldat erős habzás közben feltisztul. Az oldatot kissé bepároljuk és az esetleg bekövetkezett visszahűlést néhány csepp peroxid hozzáadásával megszüntetjük. A bepárlást addig végezzük, míg a vizes oldat térfogata alkalmas 100 ml törzsoldat készítésére. Ezután a törzsoldatból 20 ml-t kipipettázunk és két csepp metiloranzs jelenlétében néhány ml 30%-os NaOH hozzáadása után 2n NaOH-al átmeneti színing semlegesítjük. Célszerű a neutralizációt bürettából végezni azért, hogy a hirtelen helyi felmelegedést elkerüljük.

A meghatározás további menetében 0,1n  $KBrO_3$  oldatból 300 ml-es normál csiszolatos csapos lombikba (1. ábra) 40 ml-t bemérünk, hozzáadunk 1,5 g  $KBr$ -ot. Ezután a lombikot felmelegítjük, majd a csapot elzárjuk, amikor a lehűlés után a lombikban vacuum keletkezik. A tölcséren keresztül 20 ml 2n  $HCl$ -t adunk az oldathoz és az ilyenkor felszabaduló brómot 23 ml 2n  $NaOH$  hozzáadásával hipobromittá alakítjuk. Az oldatot jól összekeverjük, hogy a keletkezett hipobromit oldat felett ne maradjon el nem reagált bróm. A lombikot ezek

után már kinyithatjuk, de természetesen a csiszolatot gondosan le kell mosni. A neutralizált törzsoldatot (20 ml) a hipobromit oldathoz adjuk és a lombikot elzárva 20 percig állni hagyjuk. Utána 1,5 g  $KJ$  és 25 ml 2n  $HCl$ -t hozzáadva 5 percig várunk, majd a kivált jódot 0,5 g  $NaHCO_3$  hozzáadása után 0,1 n  $Na_2S_2O_3$ -al megtitráljuk. A végpont megállapítására a kialakult világos-sárga színnél keményítő indikátort adunk az oldathoz.

A meghatározás folyamán lejátszódó reakciók a következők:



Számítás: 0,1 n  $KBrO_3$  egy ml-e megfelel 0,4669 mg nitrogénnek, 0,5677 mg ammóniának és, 2,9181 mg fehérjének.

A megadott koncentrációviszonyok betartása fontos. Számos kísérlet azt bizonyította, hogy 10–25% fehérjetartalmú anyagból 2 g bemérés a legmegfelelőbb és akkor a megadott anyagbemérések a legcélravezetőbbek.

A módszer előnyei és pontossága:

A leírt fehérjetartalom-meghatározásnak előnyeit a következőkben foglalhatjuk össze:

1. A katalizátor nélküli, nagyobb mennyiségű hidrogénperoxid jelenlétében végbemenő roncsolás néhány perc alatt elvégezhető.

2. A fehérjemeghatározás desztilláló berendezés nélkül is, kisebb üzemi laboratóriumokban könnyen kivitelezhető.

3. Az ismertetett reakcióegyenletek értelmében egy mól. ammónia 3 egyenértékű képviselet, míg az acidimetriás meghatározásnál csak egyet. Ezért a módszer háromszor érzékenyebb, mint az acidimetriás meghatározás.

4. A végpont megállapítása a jodometriás módszernél élesebb, mint az acidimetriánál.

A módszer pontosságának megállapítására összehasonlító méréseket végeztünk a Kjeldahl és az általunk kidolgozott oxidatív titrálásos módszerrel. Az eredmények egyöntetűen azt igazolták, hogy a különböző húsipari termékek fehérjetartalma nagy megegyezést mutat mind a különböző termékeknél, (1. táblázat) mind az azonos termékek paralel meghatározásainál. Ez utóbbi esetben párizsi I. mintából 3 roncsolást, II. mintából 2 roncsolást végeztünk és ugyanazon roncsolás törzsoldatából kétféle módszerrel határoztuk meg a fehérjét. (2. táblázat) A módszer reprodukálhatóságának megállapítására tétliszalámi paszta elroncsolásával nyert törzsoldatból párhuzamos méréseket végeztünk (3. táblázat). Az eredmények itt is a mérések pontosságát és érzékenységet igazolták. További kísérleteink arra is rámutattak, hogy az oxidatív titrálásos módszer alkalmas mikromennyiségű fehérje meghatározására is. Ilyen esetben célszerű 0,01 n oldatot alkalmazni a visszatitráláshoz a tioszulfátból. A roncsolásra használt lombikban elvégezhető az egész művelet, mivel a bróm mennyisége a folyadék térfogatához képest csekély, nem szükséges vakuum mellett savanyítani.

1. táblázat

Az általunk kidolgozott oxidációs fehérjetartalom meghatározással kapott értékek összehasonlítása a Kjeldahl módszerrel

Minta megnevezése	Fehérjetartalom %-ban	
	Közölt módszerrel	Kjeldahl módszerrel
Soproni májashurka .....	14,60	15,10
Kenőmájás I. ....	13,90	14,31
Kenőmájás II. ....	14,25	13,85
Virslí .....	13,76	13,21
Szafaládé I. ....	13,55	13,21
Szafaládé II. ....	13,75	13,22
Veronai .....	14,65	13,80
Krakkói .....	17,70	17,60
Csemegezalámi paszta .....	18,50	17,80
Tétliszalámi paszta .....	24,60	25,05

Minta megnevezése	Fehérjetartalom %-ban	
	Közölt módszerrel	Kjeldahl módszerrel
Párizsi I. ....	11,68	11,28
	11,60	11,27
	11,78	11,38
Párizsi II. ....	11,27	10,94
	11,19	10,96

Az elroncsolt fehérjét tartalmazó törzsoldatból végzett párhuzamos meghatározások a reprodukálhatóság megállapítására

Elroncsolt fehérjét tartalmazó törzsoldat	Fehérjetartalom %-ban
1. ....	24,01
	23,94
	23,90
	24,12
2. ....	24,63
	24,60
	24,58

## IRODALOM

- (1) Kovácsné Márton P.: Húsipar 13, 24, 1964.
- (2) Roth, H.: Microchimica Acta, Wien 5, 6, 633 (1960)
- (3) Marcali, K., Rieman, W.: Industrial and Engineering Chemistry 11, 709 (1964)
- (4) Adams, C. J. Spaulding, G. H.: Analytical Chemistry 1003, 1955.
- (5) Freimuth, U.: Lebensmittelchemie und Gerichtliche Chemie 14, 26 (1960)
- (6) Meester, J., Krol, B.: Die Fleischwirtschaft 5, 446 (1964)
- (7) Ashraf, M., Bhatti, M. K., Shah, R. A.: Analytica Chimica Acta, Amsterdam. 448 (1961)
- (8) Kószegi, D., Salgó, É.: Magyar Kémiai Folyóirat 10, 301 (1954)

## НОВЫЙ МЕТОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ СОДЕРЖАНИЯ БЕЛКОВ В МЯСНЫХ ИЗДЕЛИЯХ

П. Мартон

Автор разработал новый метод определения содержания белков в мясных изделиях и сопоставил этот метод с классическим методом Келдала. Метод основывается на том, что вещества с большим содержанием белков минерализуются с большим количеством серной кислоты и добавляется в нагретом состоянии перекись водорода.

Содержание аммиака окисляется до азота с избытком бромноватокислого калия эквивалентного с бромом освобожденным из  $KBrO_3$  и  $KBr$ . Бромноватокислый избыток измеряется йодометрическим путём. Преимущества метода чрезвычайно быстрая минерализация и отстранение дистилляции по Келдалу.

## EINE NEUE METHODE ZUR BESTIMMUNG DES EIWEISSGHALTES VON FLEISCHWAREN

*P. Márton*

Verfasserin arbeitete ein neues Verfahren zur Bestimmung des Eiweissgehaltes von Fleischwaren aus und verglich dasselbe mit der klassischen Kjeldahl-Methode. Das Prinzip des Verfahrens beruht darauf, dass die eiweisshaltige Substanz mit verhältnismässig grossen Schwefelsäuremengen nur verkohlt und warm unter Zufügung von Hydrogenperoxid bis zur Wasserhelle zersetzt wird. Der Ammoniakgehalt wird mit einem Überschuss von aus KBr mit  $\text{KBrO}_3$  freigesetzten Brom äquivalenten Hypobromit zu Stickstoff oxydiert. Der Überschuss an Hypobromit wird jodometrisch zurücktitriert. Vorteile der Methode bestehen in der ausserordentlich raschen Zersetzung und der Ausschaltung der Kjeldahl-Destillation.

## NEW METHOD FOR THE DETERMINATION OF PROTEINS IN MEAT PREPARATIONS

*P. Márton*

A new method was evolved by the author for the determination of the protein content in meat preparations. The results obtained were compared with the data afforded by the classical Kjeldahl method. The principle of the new method is that the protein-containing sample is at first only carbonified with a relatively great amount of sulfuric acid, and then destructed to a water-clear solution by processing hot with hydrogen peroxide. The ammonia content of the solution is oxidized with excess hypobromite equivalent with the bromine liberated from potassium bromide by potassium bromate. Excess hypobromite is back titrated by iodometry. The advantages offered by the new method are: extremely rapid destruction process, and elimination of the distillation indispensable in the Kjeldahl method.

## MÉTHODE NOUVELLE POUR LE DOSAGE DE LA TENEUR EN PRO- TÉINES DES PRODUITS DE BOUCHERIE

*P. Márton*

L'auteur a élaboré une méthode nouvelle pour le dosage de la teneur en protéines des produits de boucherie et elle l'a comparée avec la méthode de Kjeldahl classique.

Le principe du procédé est que l'on traite la matière contenant des protéines avec une quantité relativement grande d'acide sulfurique jusqu'à carbonisation et ensuite l'on y ajoute de l'eau oxygénée en chauffant jusqu'à l'obtention d'un liquide limpide. L'ammoniaque est oxydé en azote par du brome libéré de KBr par  $\text{KBrO}_3$  en présence d'hypobromure en excès. On dose par iodométrie l'excédant de l'hypobromure.

L'avantage de la méthode c'est la dissolution extrême rapide de la matière organique et l'élimination de la distillation selon Kjeldahl.