

A tej kazein- és savófehérjetartalom meghatározási módszereinek összehasonlító vizsgálatai

UZONYI GYÖRGYNÉ és MOLNÁR FERENC

Tejtermékek Ellenőrző Állomása, Budapest

Érkezett: 1971. április 23.

Bevezetés

Az utóbbi években a tej összetevői közül a fehérjetartalom került előtérbe. A tejfehérje kutatások legújabb eredményei a fehérjeszerkezet és a fehérjét alkotó nitrogéntartalmú vegyületek természetének jobb megismeréséhez, egyes fehérjefrakciók (α_1 -, β -, γ -kazein és β -laktoglobulin) aminosav összetételének és szekvenciájának kimutatásához, a genetikus variánsok felismeréséhez, új nomenklatúra alkotásához vezettek.

A tejipari gyakorlatban a tej kazeintartalmának (sajtgyártás) és savófehérjetartalmának (savópor-gyártás) ismerete nélkülözhetlenné vált. A fehérjefrakciók ismerete a hőkezeléses technológiákban bekövetkező denaturálódás várható mértékére is felvilágosítást ad.

A tejfehérje ipari előállítása (kazein, savófehérjék, koprecipitátumok) akár étkezési célra, akár állattakarmányként megkívánja a tejfehérje két fő alkotórészének, a kazeinnek és a savófehérjéknek gyors vizsgálatát. A vizsgálatokhoz friss, pasztörözetlen termelői elejtejet használtunk.

Vizsgálati módszerek

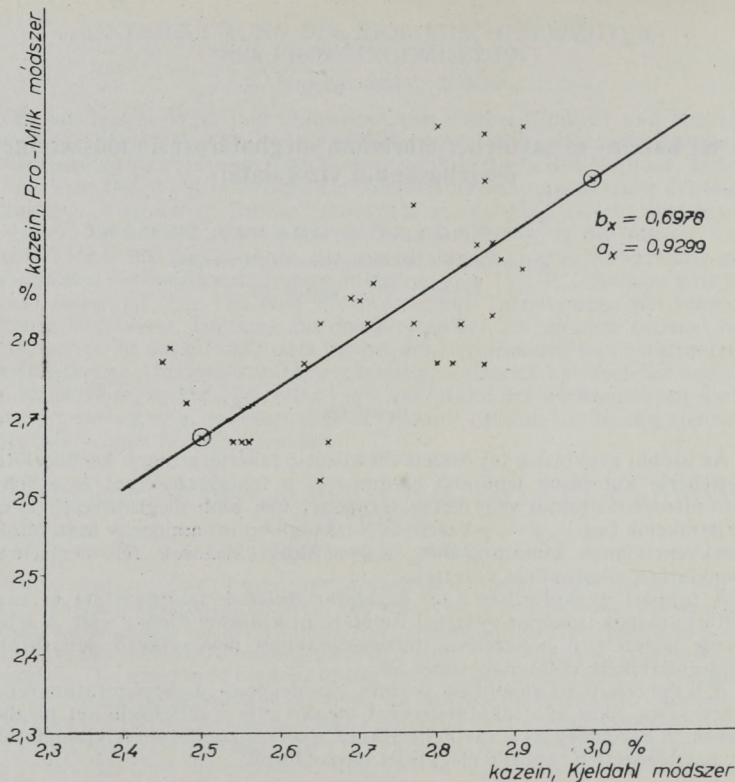
A következő módszereket hasonlítottuk össze:

1. Kjeldahl módszer
2. Színezékkötési módszer
3. Savas és lúgos titrálás a kazein izoelektromos pontjáig

1. Kjeldahl módszer (referencia módszer)

A Kjeldahl módszert a tej összes nitrogéntartalmának meghatározására a FIL – IDF 20:1962 nemzetközi szabvány írja le.

A magyar tejipari gyakorlatban a módszernek *Ketting* (1) által leírt változata terjedt el: a bemérés 5 g tej, a katalizátor CuSO_4 és K_2SO_4 elegye, a felszabaduló ammóniát sósavban fogtuk fel, a sósav feleslegét metilvörös indikátor jelenlétében lúggal visszatitráltuk.



1. ábra

Színezékkötéses (Pro-Milk) módszer (2) mérési pontjai és regressziós egyenese

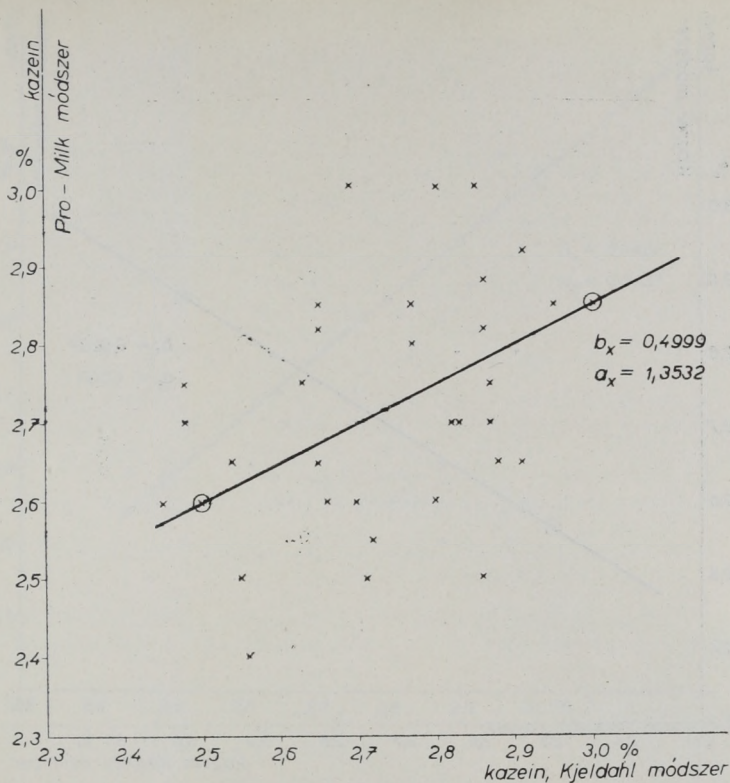
A Kjeldahl módszert a tej kazeintartalmának meghatározására a FIL – IDF 29:1964 szabvány tartalmazza. A méréseket *Ketting* (1) által leírt vizsgálati feltételekkel végeztük.

A Kjeldahl módszert a tej savófehérjetartalmának meghatározására a FIL – IDF 29:1964 és FIL – IDF 20:1962 nemzetközi szabványokat alkalmaztuk és a méréseket *Ketting* (1) által leírt vizsgálati feltételekkel végeztük.

2. Színezékkötéses módszerrel

állapítottuk meg a tej fehérjetartalmát, Pro – Milk II. készülékben.

A színezékkötési módszert a kazein meghatározására az A/S. N Foss Electric, a Pro – Milk II. készüléket gyártó cég alkalmazási útmutatója (2) írja le: a tej összes fehérjetartalmát a készülékben leolvastuk (1); a tej kazeintartalmát ecetsav-nátriumacetát pufferral kicsaptuk, a szűret tejjellel dúsított fehérjetartalmát



2. ábra

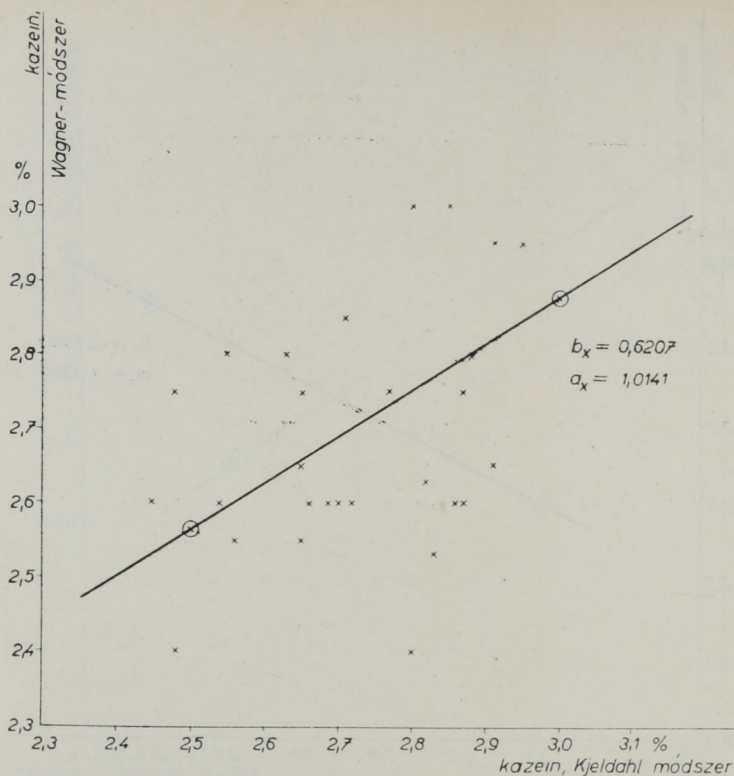
Színezékkötéses (Pro-Milk) módszer (3) mérési pontjai és regressziós egyenese

(1 cm³ szűrlet + 1 cm³ tej) a Pro - Milk II. készülékben leolvastuk (III); térfogat korrekció végett még egy (1 cm³ desztillált víz + 1 cm³ tej) leolvasást végeztünk (II).

A kazeintartalmat megkaptuk, ha a III. és II. leolvasás különbségét 0,03 korrekcióval megnöveltük és az I. leolvasásból levontuk.

A színezékkötési módszert a kazein vizsgálatára még egy változatban alkalmaztuk az A/S.N Foss Electric Pro - Milk II. használati utasításában (3) leírtak szerint. A vizsgálandó, ismert fehérjetartalmú tejben a kazein ecetsav-nátrium-acitát pufferes kicsapása után nyert szűrlethez az ismert fehérjetartalmú tejet adtuk, az elegy fehérjetartalmát közvetlenül leolvastuk, ebből a kazeintartalmat a következő képlettel számítottuk:

$$\text{kazeintartalom \%} = F_t - \frac{(A+B)D - B F_t}{A}$$

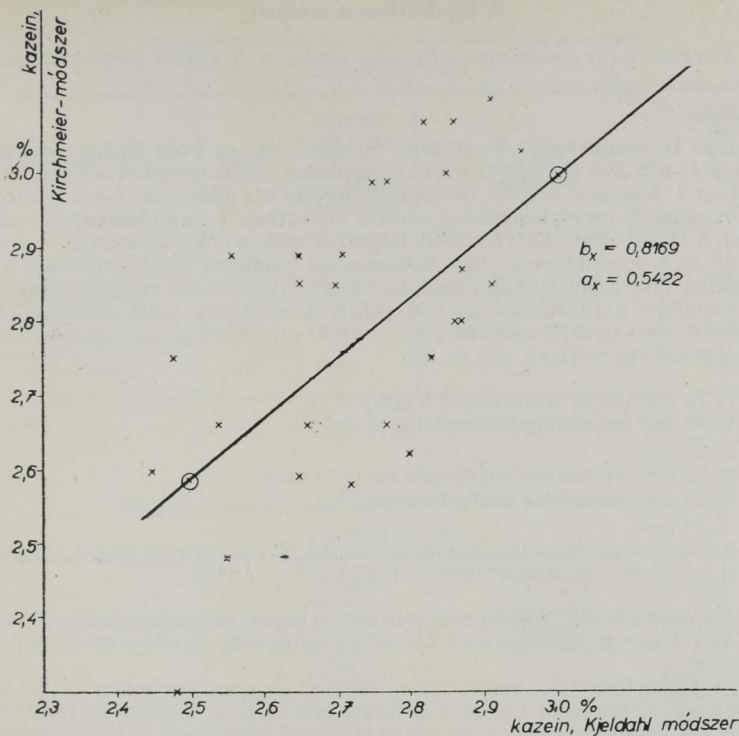


3. ábra
Wagner f. módszer mérési pontjai és regressziós egyenese

- F_l = annak a tejknek Pro – Milk készülékkel mért összfehérje %-a, melynek a kazeintartalmát vizsgáljuk
- A = szűrlet cm^3
- B = tej cm^3
- D = szűrlet + tej elegy fehérjetartalom

A kazeintartalmat színezékkötéssel Wagner és munkatársai (4) szerint határoztuk meg úgy, hogy a kazeint ammóniumsulfát vizes oldatával kicsaptuk, a savótól centrifugálással elválasztottuk, konyhasó oldattal ismét oldatba vittük. Az oldatnak Pro – Milk II. készülék skáláján leolvasott értéke a kazeintartalom.

A savó fehérjetartalmát a fent leírt módszerrel Pro – Milk készülékben a III. és II. leolvasás különbségeként kaptuk meg. A savó fehérjetartalmát fenti jelölésekkel számítással is meghatároztuk:



4. ábra
Kirchner f. módszer mérési pontjai és regressziós egyenese

$$\text{savófehérje-tartalom \%} = \frac{(A+B)D - BF_l}{A}$$

E módszerrel kapott kazeintartalom adatokat a referencia módszerhez hasonlítva ábrázoltuk. A pontokat és a regressziós egyenes a módszer alkalmatlanságát bizonyította, ezt támasztotta alá a számított korrelációs koefficiens is.

A Wagner f. módszerrel meghatározott kazeintartalmat a színezékkötéssel mért összes fehérjetartalomtól levontuk. Az adatok ábrázolása, továbbá a matematikai-statisztikai értékelés azt mutatta, hogy a módszer a savófehérje-tartalom vizsgálatára nem használható.

3. Izoelektromos módszer

Kirchmeier (5) izoelektromos titrálási módszere a kazein meghatározására:

Példa

I. és II. lombikba 3–3 cm³ tejet pipettáztunk, az I-hez 25 cm³ desztillált vizet, a II-höz 35,0 cm³ n/100 sósavat engedtünk. A II. lombikot a lúgot tartalmazó, az I. lombikot a savat tartalmazó buretta alá állítottuk. I-hez lassan, az első maradandó pehelyképződésig sósavat engedtünk 1 csepp/másodperc sebességgel. A II-höz ez idő alatt a lombik forgatása közben n/100 nátronlúgot adtunk. Miután az I. lombikban a sósav felhasználást pontosan megállapítottuk, a II. lombikban levő elegyet az első maradandó pehelyképződésig visszatitráltuk.

Számítás: a titráláshoz az első pehely képződésig felhasználtunk 14,12 cm³ n/100 sósavat, a II. visszatitráláshoz 15,10 cm³ n/100 nátronlúgot. A kazeintartalommal egyenértékű sav és lúg:

$$\begin{array}{r} 14,12 \text{ cm}^3 \text{ (sósav felhasználás I.-hez)} \\ + 15,10 \text{ cm}^3 \text{ (nátronlúg felhasználás II.-hoz)} \\ \hline 29,22 \text{ cm}^3 \\ 35,00 \text{ cm}^3 \text{ (előzetesen felhasznált sósav II.-hoz)} \\ - 29,22 \text{ cm}^3 \text{ (összes sav és lúg felhasználás)} \\ \hline 5,78 \text{ cm}^3 \end{array}$$

5,78 cm³ sósav fogyott 3 cm³ tejhez, azaz 1,92 cm³ 1 cm³ tejhez. 1,377 átszámítási faktorral a kazeintartalom = 1,92 · 1,377 = 2,64%

A *Kirchmeier*-féle izoelektromos titrálással kapott kazeintartalmat a *Kjeldahl* módszerrel kapott összfehérjéből levonva kaptuk meg az elegytej savófehérje-tartalmát.

(A *Kjeldahl* módszer helyett üzemi célra az elegytej formoltitrálással mért összfehérje tartalmából kivont kazeintartalom adja a savófehérje-tartalmat.)

A tej kazeintartalmát a fehérjetartalomból számításal is meghatároztuk. Az átszámítási faktort 31 elegytej *Kjeldahl* vizsgálatából 0,774 ± 0,28-nak találtuk.

Értékelés

A vizsgálati módszereket (31 minta) matematikai-statisztikai eljárással hasonlítottuk össze: számítottuk az egyes eljárásokkal kapott kazein- és savófehérje-tartalom átlagértékét, a *Kjeldahl* vizsgálati értékhez, mint referencia módszerhez számított korrelációs együtthatót, a regressziós egyenes egyenletét és a regressziós egyenes körüli szórást. Az eredmények összefoglalását az 1. és 2. táblázat tartalmazza.

A kazein mérési adatokat, valamint a regressziós egyeneseket az 1–4. ábra, a savófehérje adatokat, valamint a regressziós egyeneseket az 5–6. ábra mutatja.

Következtetések

A roncsolásos (*Kjeldahl*) kazein- és savófehérje meghatározás egyéb módszerrel helyettesíthető.

Kazeintartalom meghatározási módszerek összehasonlítása

(mintaszám = 31)

Módszer neve, jele	Átlag-érték	Kjeldahl módszerhez képest számított korrelációs koeficiens	Regressziós egyenes egyenlete	Regressziós egyenes körüli szórás s_{yx}^2
Kjeldahl	2,71	—	—	—
Szinezékkötés (2) ..	2,84	0,534	$y = 0,930 + 0,698 x$	0,026
Szinezékkötés (3) ..	2,72	0,459	$y = 1,353 + 0,500 x$	0,020
Szinezékkötés (Wagner)	2,71	0,499	$y = 1,014 + 0,621 x$	0,025
Izoelektromos titrálás (Kirchmeier)	2,77	0,442	$y = 0,542 + 0,817 x$	0,059

2. táblázat

Savófehérje-tartalom meghatározási módszerek összehasonlítása

(mintaszám = 31)

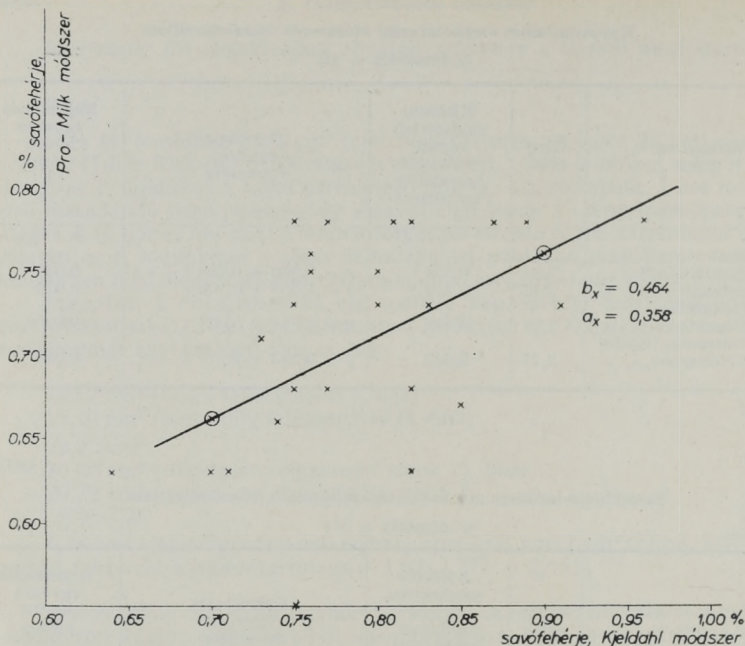
Módszer neve, jele	Átlag-érték	Kjeldahl módszerhez képest számított korrelációs koeficiens	Regressziós egyenes egyenlete	Regressziós egyenes körüli szórás s_{yx}^2
Kjeldahl	0,79	—	—	—
Szinezékkötés (2)	0,72	0,445	$y = 0,358 + 0,464 x$	0,004
Izoelektromos titrálás (Kirchmeier)	0,73	0,500	$y = -0,618 + 1,710 x$	0,037

Kazeinvizsgálat

A matematikai-statisztikai elemzésből kitűnik, hogy a helyettesítő vizsgálati módszerek korrelációs koeficiensei szignifikánsan nem térnek el egymástól. A korrelációs koeficiensek számértékei nem utalnak eléggé szoros kapcsolatra. Ezt azzal magyarázzuk, hogy a mérési tartomány (2,45–2,95% kazeintartalom határok közt) igen szűk volt. A gyenge korreláció továbbá azzal magyarázható, hogy a referencia értékek két roncsolásos vizsgálat eredményének kivonásával adódtak, így azokat két szuperponáló szórás terheli.

A regressziós egyenletek b_x együtthatójának szignifikancia vizsgálata azt mutatta, hogy azok 0-tól szignifikánsan eltérnek, azaz a Kjeldahl és az egyéb vizsgálati módszerek közti összefüggés bizonyított.

Az eleytejre általános 2,45–2,95% kazeintartományban a módszerek regressziós egyenleteiből számított értékek a mérési tartomány határain és átlagértékénél a 3. táblázatban összefoglalt eltéréseket mutatták.



5. ábra

Szinezékkötéses (Pro-Milk (2) módszer mérési pontjai és regressziós egyenese

A számított statisztikai jellemzők nem alkalmasak annak eldöntésére, hogy melyik módszert kell előnyben részesíteni. Ezért két egyszerűen kivitelezhető kazein vizsgálati módszert ajánlunk a *Kjeldahl* módszer helyettesítésére:

- amennyiben Pro – Milk készülék rendelkezésre áll, a gyártó cég által leírt (2) módszert;
- Pro – Milk készülék hiányában a *Kirchmeier f.* módszert.

Indoklás

A Pro – Milk készülékkel mért kazeinérték egyszerre mind a savófehérje-tartalmat is szolgáltatja, a *Kirchmeier f.* módszer pedig egyszerűen kivitelezhető, műszerigénye nincs.

Savófehérje-tartalom

A regressziós egyenletekből számított értékek a mérési tartomány határain és az átlagértéknél a 4. táblázatban feltüntetett eltéréseket mutatják. Az adatok matematikai-statisztikai elemzése alapján a savófehérje-tartalom vizsgálatára a referencia módszer mellett csak a Pro – Milk készülék-es (2) ill. a *Kirchmeier f.* módszer jöhet számításba.

Kazein vizsgálati módszerek összehasonlításával kapott regressziós egyenletekből számított eltérések a Kjeldahl módszerhez képest a mérési tartomány határain és az átlagértékeknél

Színezékkötéses módszer (2) regressziós egyenlete

$$y = 0,930 + 0,698 x$$

$x = 2,45$	$y = 2,64$
$x = 2,84$	$y = 2,91$
$x = 2,95$	$y = 2,99$

Színezékkötéses módszer (3) regressziós egyenlete

$$y = 1,353 + 0,500 x$$

$x = 2,45$	$y = 2,58$
$x = 2,72$	$y = 2,71$
$x = 2,95$	$y = 2,83$

Wagner, módszer (4) regressziós egyenlete

$$y = 1,014 + 0,621 x$$

$x = 2,45$	$y = 2,54$
$x = 2,71$	$y = 2,70$
$x = 2,95$	$y = 2,85$

Kirchmeier f. módszer (5) regressziós egyenlete

$$y = 0,542 + 0,817 x$$

$x = 2,45$	$y = 2,54$
$x = 2,77$	$y = 2,81$
$x = 2,95$	$y = 2,95$

Savófehérje vizsgálati módszerek összehasonlításánál kapott regressziós egyenletekből számított eltérések a Kjeldahl módszerhez képest a mérési tartomány határain és az átlagértékeknél

Színezékkötéses módszer regressziós egyenlete

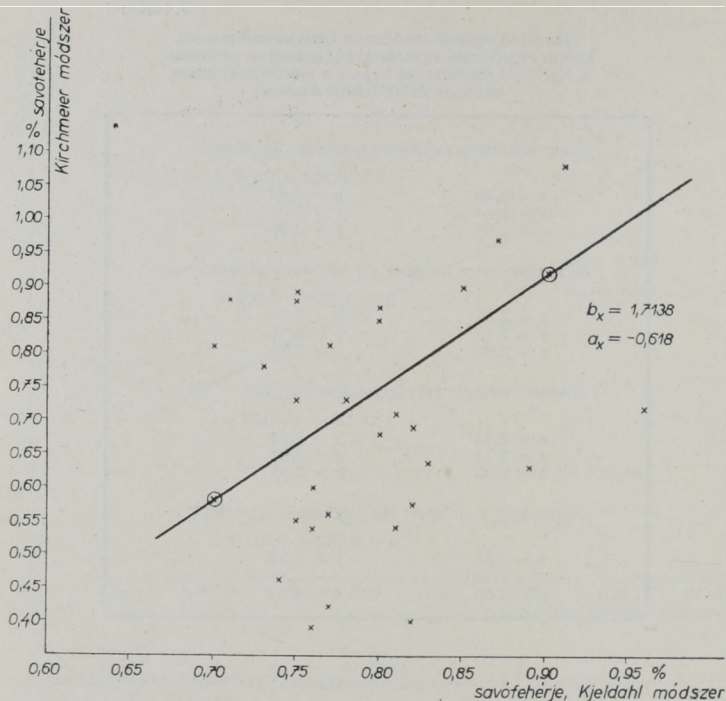
$$y = 0,358 + 0,464 x$$

$x = 0,64$	$y = 0,65$
$x = 0,72$	$y = 0,69$
$x = 0,96$	$y = 0,80$

Kirchmeier f. módszer regressziós egyenlete

$$y = -0,618 + 1,710 x$$

$x = 0,64$	$y = 0,48$
$x = 0,73$	$y = 0,63$
$x = 0,96$	$y = 1,02$



6. ábra
Kirchner f. módszerrel számított pontok és regressziós egyenes

IRODALOM

- (1) *Ketting, F.*: Laboratóriumi gyakorlatok III. 75–77. o. Műszaki Könyvkiadó, Bp. 1959.
- (2) A/S.N Foss Electric alkalmazási útmutató 5. és 6. szám, 1973. febr.
- (3) A/S.N Foss Electric Pro–Milk II. használati utasítás
- (4) *Wagner, A., Merényi, I., Dobos Kovács, M.*: ÉVIKE 19, 133, 1973.
- (5) *Kirchner, O.*: Deutsche Molkerei Zeitung 89 1939, 1968.

СРАВНИТЕЛЬНЫЕ ИСПЫТАНИЯ МЕТОДОВ ОПРЕДЕЛЕНИЯ СОДЕРЖАНИЯ КАЗЕИНА И БЕЛКА В СЫВОРОТКЕ МОЛОКА

Дб. Узони и Ф. Молнар

Авторы проводили сравнения некоторых методов испытаний содержания казеина и белка в сырой молочной смеси для отбора легко выполнимого, быстрого метода испытания. Метод описанный в стандарте FIL – IDF 29 : 1964 считаеьмый методом референции и сравнивают его с результатами испытаний казеина полученных из образцов молока методом валентной связи красителей амидочорного 10 Б (в аппарате Pro Milk) и с результатами полученных изоэлектрическим титрованием.

Содержание белка сыворотки испытанного непосредственно методом валентной связи красителей, а также рассчитанных в качестве разницы содержания казеина в содержании общего белка, сравнивали с содержанием белка сыворотки установленного по данным стандарта FIL - IDF 29 - 1964.

VERGLEICHENDE UNTERSUCHUNGEN DER ZUR BESTIMMUNG DES CASEIN- UND MOLKENPROTEINGEHALTES DIENENDEN METHODEN DER MILCH

Gy. Uzonyi und F. Molnár

Die verschiedenen, zur Bestimmung des Casein- und Molkenproteingehaltes der rohen Mischmilch dienenden Untersuchungsmethoden wurden miteinander verglichen, um eine leichtdurchführbare, rasche Untersuchungsmethodik auszuwählen. Die durch die auf die Bindung des Farbstoffes Amidoschwarz - 10 B fussende (im Gerät Pro-Milk durchgeführte) Methode und durch die isoelektrische Titration erhaltenen Werte wurden mit denen der in der Norm FIL-IDF 29 : 1964 beschriebenen und als Referenzmethode betrachteten Caseinanalyse verglichen. Der durch die Farbstoffbindunsmethode unmittelbar bestimmte Molkenproteingehalt sowie der aus dem Unterschied zwischen dem Gesamtproteingehalt und dem Caseingehalt berechneter Molkenproteingehalt wurde gleichfalls mit dem nach der Norm FIL-IDF 29 : 1964 bestimmten Molkenproteingehalt verglichen.

Für rasche Betriebsuntersuchungen wird die auf die Farbstoffbindung fussende Methode und die isoelektrische Titration empfohlen.

Auf Grund der durch die Kjeldahlmethode ermittelten Untersuchungsangaben ist der Caseingehalt der Mischmilch von Kleinwirtschaften durch Multiplikation des Gesamtproteingehaltes mit dem Faktor $0,774 \pm 0,028$ berechenbar.

COMPARATIVE INVESTIGATIONS OF THE METHODS FOR THE DETERMINATION OF THE CASEIN AND WHEY-PROTEIN CONTENTS IN MILK

Gy. Uzonyi and F. Molnár

In order to select an easily performable, quick analytical procedure the various methods for the determination of the casein and whey-protein contents in raw milk mixtures were compared. The analytical results of milk samples investigated by the dye binding method (amidoblack - 10 B carried out in a Pro-Milk instrument) and by isoelectric titration were compared with the data obtained by the method of casein analysis specified in the standard FIL-IDF 29 : 1964 chosen here as a reference method. The values of whey-protein content obtained directly by means of the dye-binding method and the data afforded by calculating the difference between total protein content and casein content were compared similarly with the whey-protein contents established according to the standard FIL-IDF 29 : 1964.

For the purposes of a quick checking test in the milk plants the dye binding method and the isoelectric titration are recommended.

On the basis of investigations carried out by destruction according to Kjeldahl, the casein content of mixtures of farm milk can be calculated by multiplying the total protein content by a factor of $0,774 \pm 0,028$.