

# Sajt fehérjetartalmának spektrofotometriás meghatározása az ultraibolya tartományban

G Á B O R M I K L Ó S N É

Élelmiszeripari Főiskola, Szeged, Kémia Tanszék

Érkezett: 1977. december 10.

## Az eljárás elvi alapjai

A megfelelő módon aprított sajtból speciális reagensekkel kristálytiszta oldatot nyerünk. Az oldat fehérjetartalma az ultraibolya tartományban mutatkozó jellegzetes abszorpciós maximumon spektrofotometriásan mérhető (1., 2., 3.).

## Szükséges eszközök

Ultraibolya tartományban mérő spektrofotométer,  
1 cm-es kvarcküvetta,  
100 cm<sup>3</sup>-es hasas pipetta,  
1 cm<sup>3</sup>-es precíziós pipetta,  
10 cm<sup>3</sup>-es buretta,  
10 cm<sup>3</sup>-es csiszolt dugós kémcső,  
250 cm<sup>3</sup>-es főzőpohár.

## Szükséges vegyszerek, anyagok

0,1 n nátrium-hidroxid oldat,  
97%-os ecetsavoldat,  
kloroform, a. lt.

## A meghatározás menete

A megfelelő módon előkészített mintát aprítjuk, szuszpenziót készítünk. Ismert mennyiségű szuszpenzióból szerves oldószerekkel kristálytiszta oldatot állítunk elő, ezt fotometráljuk.

### *A minta előkészítése, tárolása*

A vizsgálandó mintán levő kérget, vagy megszáradt felületet levágjuk. A sajtot lereszeljük és üvegedénybe tesszük, melyet alumíniumfóliával szorosan letakarva hűtőszekrényben tárolunk vizsgálatig.

## Szuszpenziőkészítés

A mintából 3 g-ot mérünk be két tizedes pontossággal a főzőpohárba. Hozzápipettázunk állandó forgatás mellett  $100\text{ cm}^3$  előzetesen  $45\text{ }^\circ\text{C}$ -ra felmelegített nátrium-hidroxid oldatot. A sajtanyag teljes szuszpendálása néhány perc alatt bekövetkezik az állandó mozgás mellett.

### A spektrofotometriás eljárás kivitelezése

A homogén szuszpenzióból  $1\text{ cm}^3$ -t kémcsőbe pipettázunk, bürettából hozzámérünk  $8\text{ cm}^3$  ecetsavat és  $1\text{ cm}^3$  kloroformot. Elegyítés után kristálytiszta oldatot kapunk, mely fotometrálnak.

A fotometriás kompenzáló oldat összetétele:  $1\text{ cm}^3$  nátrium-hidroxid,  $8\text{ cm}^3$  ecetsav és  $1\text{ cm}^3$  kloroform összemérésével készül.

### A mérési hullámhossz megállapítása

A fenti oldatot fotometráltuk  $330\text{--}250\text{ nm}$  értékek között. A spektrumot az 1. ábra szemlélteti. Ennek alapján megállapítottuk, hogy a sajtfehérje abszorpciós maximuma  $276\text{ nm}$ -nél van. A további méréseket ezen a hullámhosszon végeztük.

### A kalibrációs egyenes készítéséhez szükséges mérések

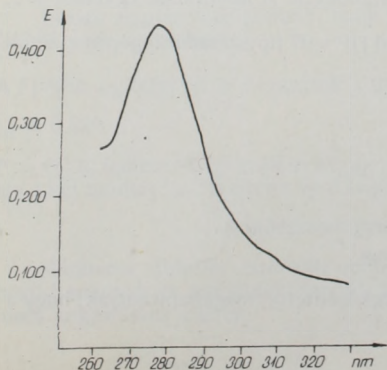
A fotometrálással kapott extinkció értékeket ugyanazon minta Kjeldahl-szerinti fehérjetartalom meghatározással (szabvány eljárás) nyert adatokkal vetettük össze.

Az eltérő fehérjetartalmú mintákat úgy készítettük, hogy a sajtához különböző arányban mértünk be vajat, s az anyagot gondosan homogenizáltuk. Ezek összetételét az 1. táblázatban foglaltuk össze.

1. táblázat

Eltérő fehérjetartalmú sajtminták

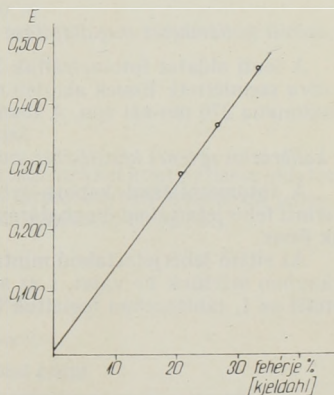
Minta jele	Sajtbeérés, g	Vajbeérés, g
1.	18,00	12,00
2.	24,00	6,00
3.	30,00	0,00



1. ábra. Sajtfehérje spektruma

## Fehérjetartalom meghatározása Kjeldahl módszerrel

Az eljárás vázlatos menetét az alábbiakban foglaljuk össze. 1 g körüli, analitikai mérlegben bemért sajtmennyiséget Kjeldahl lombikba tömény kénsavval elroncsolunk roncsolókeverék (Se, réz-szulfát és kálium-szulfát) jelenlétében. A kapott oldatot 100 cm<sup>3</sup>-re töltjük fel. A törzsoldatból 20 cm<sup>3</sup>-t Parnas Wagner készülékben tovább vizsgálunk. A tömény lúggal felszabadított ammóniát ismert mennyiségű 0,1 n sósavban fogjuk fel Tashiro-indikátor jelenlétében. A nem reagált sósavat nátrium-hidroxid oldattal titráljuk vissza. A számításnál 6,38-as szorzószámmal dolgozunk.



2. ábra. Kalibrációs egyenes sajtfehérje tartalom meghatározáshoz

## Fehérjetartalom meghatározása spektrofotometriásan

A mintákból a fent leírtak szerint végezzük el a méréseket.

### Kalibrációs egyenes szerkesztése, regressziós egyenlet számítása

A vizsgálatok adatait a 2. táblázat tartalmazza. A kalibrációs egyenest a 2. ábra mutatja.

A regressziós egyenes egyenletét Packard HP – 97 típusú számítógépen számoltuk ki, lineáris program alkalmazásával.

A regressziós egyenes egyenlete:

$$y = -0,002 + 69,50x, \text{ ahol}$$

$x$  = a mért extinkció,

$y$  = a minta fehérjetartalma, %.

A korrelációs koefficiens:

$$r = 0,9998.$$

Ennek alapján, mivel az  $r$  értéke 1-et jól megközelítette, megállapíthatjuk, hogy a két módszer közötti kapcsolat szoros.

## Különböző fehérjetartalmú sajtminták vizsgálati adatai

Minta jele	Extinkció	Fehérjetartalom, % Kjeldahl-szerint
1.	0,293	20,20
	0,285	19,90
	0,294	20,19
	0,285	19,90
	0,285	19,95
2.	0,360	26,69
	0,365	26,75
	0,360	26,75
	0,362	26,68
	0,368	26,78
3.	0,455	33,37
	0,465	33,50
	0,455	33,33
	0,457	33,46
	0,465	33,40

## A spektrofotométeres fehérjetartalom meghatározás pontosságának matematikai vizsgálata

A fotométeres eljárás pontosságának matematikai kiértékeléséhez – irodalmi adatok alapján – a Kjeldahl-féle fehérjetartalom meghatározást választottuk. Mindkét módszerrel – azonos mintából – 15–15 analízist végeztünk. A fotometriás meghatározásnál kapott extinkcióértékeket a regressziós egyenlet segítségével fehérjetartalomra számítottuk át. A mérési adatokat a 3. táblázat tartalmazza.

Annak megállapítására, hogy a Kjeldahl-módszerrel és a fotometriás eljárással kapott fehérjetartalmak között az eltérés szignifikáns-e, a  $X^2$  próbát számoltuk ki a HP-97 típusú számítógéppel.

$$X^2 = 0,0909.$$

Az ebből számított eloszlásfüggvény:

$$P(x) = 7,398 \cdot 10^{-15}.$$

Ennek alapján leszögezhető, hogy 99,99% valószínűséggel a két eljárás közti eltérés nem szignifikáns.

A *t*-próba segítségével is elvégeztük a szignifikancia vizsgálatot.

$$t_{sz} = 0,296.$$

$P = 0,1\%$  valószínűségi szinten a  $t_{tbl.} = 4,14$ ; tehát a számított értéknél nagyobb, így a két módszer közti eltérés nem szignifikáns (4).

## A módszerek gyakorlati jelentősége

Méréseink alapján eszközölt matematikai számításokból megállapíthattuk, hogy a módszer és a Kjeldahl szerinti fehérje meghatározási eljárás adatai között nincs szignifikáns eltérés.

## Fehérjertartalom alakulása óvári sajtban

Sorszám	Extinkció	Fehérjertartalom %	Fehérjertartalom Kjeldahl- módszerrel %
1.	0,455	33,37	33,38
2.	0,465	33,45	33,40
3.	0,454	33,36	33,42
4.	0,455	33,37	33,39
5.	0,465	33,45	33,45
6.	0,453	33,35	33,45
7.	0,457	33,40	33,46
8.	0,465	33,45	33,40
9.	0,455	33,37	33,40
10.	0,465	33,45	33,41
11.	0,465	33,45	33,33
12.	0,465	33,45	33,33
13.	0,450	33,37	33,42
14.	0,468	33,49	33,40
15.	0,456	33,38	33,45
	Átlag:	33,41	33,406
	Szórás, s:	$\pm 0,036$	$\pm 0,084$

A gyakorlati kivitelezésnél feltétlenül meg kell említenünk a módszer igen kicsi időigényét. A kalibrációs egyenes, vagy regressziós egyenlet birtokában a termék százalékos fehérjertartalma egész rövid idő alatt meghatározható, illetve számolható. (Ugyanazon műszer használata esetén, ugyanazon mérési körülmények között a kalibrációs egyenes illetve a regressziós egyenlet ugyanazon vizsgáló anyagra hosszabb ideig használható.) Sorozatvizsgálatot feltételezve az egy fehérjertartalom adatra eső időigény még jobban lerövidül. A módszer gazdaságos, viszonylag kevés a vegyszerigény, valamint a munkaidő ráfordítás. Az egyszeri behúrázással beszerzett spektrofotométer más komponensek vagy anyagok analizésénél is felhasználható.

A módszer gyorsaságából következik, hogy különböző területeken jól használható adatgyűjtésre. Így gyártásközi ellenőrzésnél, késztermék ellenőrzésnél mind az iparban, mind a kereskedelmi hálózatban. A viszonylag gyorsan eszközölhető mérésekből nagyszámú adathalmaz képezhető, melyekből gazdaságossági, minőség alakulási számítások eszközölhetők.

\* \* \*

Köszönetemet fejezem ki Szolcsányi Józsefné szakoktatónak a munka során kifejtett pontos, lelkiismeretes munkáért és Szegner Erzsébet üzemmérnöknek.

## IRODALOM

- (1) Toma, S. I. és Nakai, S.: J. of Food Science, 36, 507, 1971.
- (2) Wrigley, C. W. és Webster, H. L.: J. Chromatog., 33, 534, 1968.
- (3) Nakai, S. és Le, A. C.: J. Dairy Sci., 53, 276, 1970.
- (4) Sváb, J.: Biometriai módszerek a kutatásban, Mezőgazdasági Könyvkiadó, Budapest, 1973.

## СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ БЕЛКА СЫРА В УЛЬТРАФИОЛЕТОВОМ СПЕКТРЕ

*Габор Миклошнэ*

Метод заключается в том, что из сыра нарезанного соответствующим образом специальными реагентами изготовили прозрачный раствор. Содержание белка в растворе измеряли спектрофотометрическим способом в ультрафиолетовом спектре обнаруженном на типичном абсорбционном максимуме. Полученные значения экстинкции сличением определения содержания белка того же образца по Къельдалю возможно составить калибрационную прямую. Помощью этой прямой на основании измерения экстинкции возможно отчитать содержание белка любого образца сыра. Калибрационную прямую при идентичных условиях для того же образца сыра необходимо построить один раз.

Метод является быстрым, точным и экономичным.

## SPECTROPHOTOMETRISCHE BESTIMMUNG DES PROTEINGEHALTES VON KÄSEN IM ULTRAVIOLETTEN BEREICH

*M. Gábor*

Das Wesentliche dieser Methode ist die Herstellung einer kristallklaren Lösung mittels spezieller Reagenzien aus der auf entsprechende Weise zerkleinerten Käse. Der Proteingehalt der Lösung ist spektrophotometrisch bei dem im ultravioletten Bereich erscheinenden charakteristischen Absorptionsmaximum messbar. Durch Vergleich der erhaltenen Extinktionswerte mit den nach Kjeldahl bestimmten Proteingehalten kann eine Kalibrierungsgerade konstruiert werden. Mittels dieser Gerade ist der Proteingehalt irgendwelches Käsemusters auf Grund der gemessenen Extinktion ablesbar. Unter denselben Bedingungen muss die Kalibrierungsgerade für dasselbe Muster nur einmal konstruiert werden.

Die Methode ist rasch, genau und ökonomisch.

## SPECTROPHOTOMETRIC DETERMINATION OF THE PROTEIN CONTENT OF CHEESES IN THE ULTRAVIOLET REGION

*M. Gábor*

The method consists essentially in preparing a crystal clear solution from adequately crushed cheese with the use of special reagents. The protein content of the solution can be measured by spectrophotometry at the characteristic absorption maximum appearing in the ultraviolet region. On comparing the obtained extinction values with the protein contents obtained by Kjeldahl method in the same sample, a calibration straight can be plotted by means of which the protein content of any cheese sample can be read on the basis of the measured extinction value. Under the same conditions the calibration straight must be plotted only once for the same sample.

The method is quick, accurate and economical.