

PROTEINBESTIMMUNG MIT ITAG SPRINT – EINE NEUE RASCHE BESTIMMUNG DES EIWEISSGEHALTES IN VERSCHIEDENEN LEBENSMITTELN

A. Wolf¹, M. Lang¹

¹Analyticum-Labor für Lebensmitteluntersuchung, Parkring 1
A-8074 Grambach, Österreich

SCHLÜSSELWÖRTER

Proteinbestimmung in Lebensmitteln, Sprint Analysator, Kjeldahl, Schnellproteinbestimmung, akkreditierte Methode

EINLEITUNG

Die Bestimmung des Eiweißgehaltes spielt in der Lebensmittelindustrie eine wesentliche Rolle. Sie stellt eine wichtige Messgröße bei der Qualitätskontrolle verschiedener Lebensmittel dar. Die häufigste Methode zur Bestimmung des Proteingehaltes von Lebensmitteln, Rohstoffen und Nahrungsergänzungsmitteln ist bis heute die Proteinbestimmung nach Kjeldahl.

Mit dem Kjeldahl- Aufschluss werden Stickstoffverbindungen (Proteine, Amine, organische Verbindungen) in Ammonium-Verbindungen überführt, über Titration der Gesamtstickstoffgehalt bestimmt und mittels empirischen Faktoren der Proteingehalt errechnet. Da dieses Verfahren nicht spezifisch auf Proteine ist, kann jede andere Stickstoffquelle – organischen oder anorganischen Ursprungs – das Ergebnis verfälschen. Die Methode erfordert des Weiteren zeitintensive Arbeitsschritte und den Einsatz gefährlicher Chemikalien, die hohe Anforderungen an die Laborsicherheit stellen.

Als Alternative zu den gebräuchlichen Standardtechniken wird durch das Sprint System eine viel schnellere Methode angewendet. Im SPRINTTM wird für die Bestimmung des Proteingehaltes eine biochemische Methode genutzt. Diese Technik nutzt die biochemische Identifizierung (Protein tagging über den Farbstoff iTAG, Abbildung 1) der Proteine und misst ausschließlich den Proteingehalt der Probe [1].

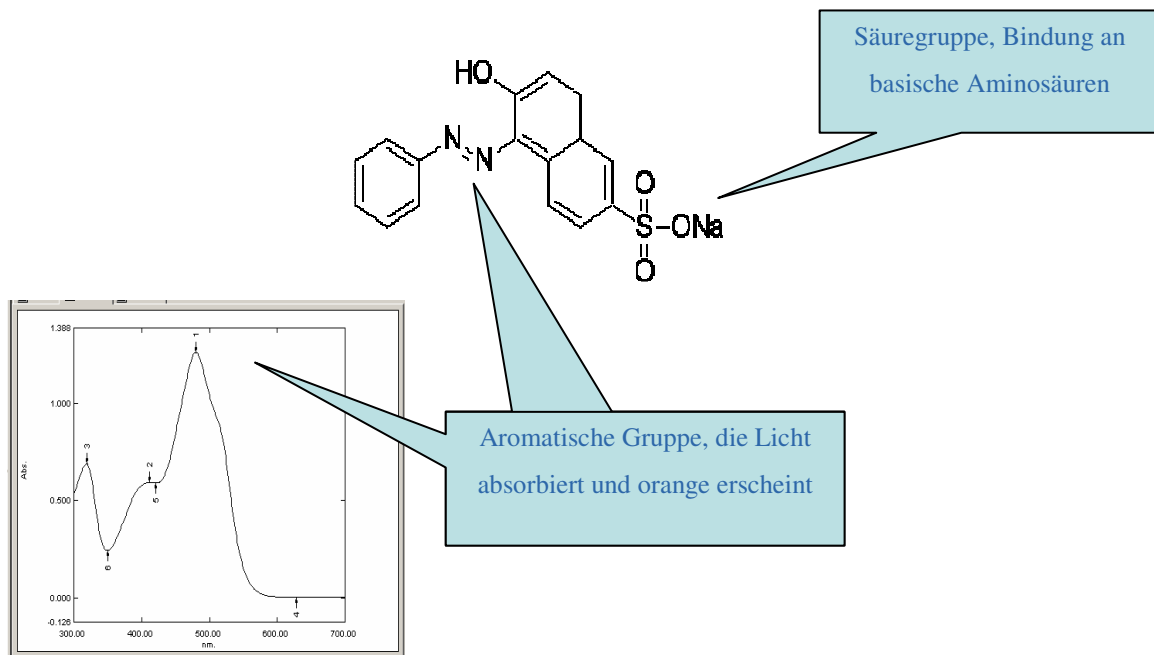


Abbildung 1: Bindung der iTAG Lösung an die basischen Aminosäuren der Proteine. Die Absorption erfolgt bei 483 nm [3].

Messprinzip: Zu Beginn der Analyse wird die Probe in einem Becher eingewogen und in den SPRINT gestellt. Daraufhin wird vollautomatisch eine definierte Menge an iTAG-Lösung zudosiert und mittels eines integrierten Homogenisators durchmischt. Die iTAG Lösung bindet an an die basischen Aminosäuren (tagging)[2]. Der unverbrauchte Farbstoff wird über ein Filtersystem an der Probe entnommen und die Absorption bei 483 nm [3] photometrisch vermessen. Die Analyse dauert typischerweise zwei bis drei Minuten. Das Analysenergebnis wird am Bildschirm und am eingebauten Drucker ausgegeben. Das Prinzip dieser Farbreaktion ist schon seit gut 30 Jahren bekannt und wird für diese exakte Proteinbestimmung eingesetzt.

Im Analyticum wurde dieses Verfahren zur Bestimmung des Eiweißgehaltes in verschiedenen Fleisch- und Wursterzeugnissen, Milch- und Milcherzeugnissen und pflanzlichen Produkten zunächst im Rahmen eines Forschungsprojekts angewendet. Die daraus gewonnen Daten wurden mittels des Excel-Macros Validata® überprüft und validiert.

MATERIAL UND METHODEN

Sprint Analysator.— CEM Corp.

iTAG Lösung. — CEM Corp.

Wegwerffilter.— CEM Corp.

Wegwerfbecher.— CEM Corp.

Externe Waage

Auf einer externen Waage, welche mit dem SPINT System verbunden ist, wird je nach Methode 0,3 bis 1 g eingewogen. In dem Analysator wird ein Filter und ein Becher, in dem die homogenisierte Probe vorhanden ist, eingebracht. Das System führt nun eine definierte Menge an iTAG Lösung in den Becher zu der homogenisierten Probe. Während des Vermischens der Probe mit der iTAG Lösung wird ein unlöslicher Komplex gebildet. Ein Teil der Lösung wird durch den Filter aufgesogen und bei 483 nm vermessen.

ERGEBNISSE UND DISKUSSION

Das Ziel bestand darin, dieses System für die Eiweißbestimmung zu optimieren und die vorhandenen Daten mit denen der im LMBG § 35 angewandten Methoden (=Kjeldahl) zu vergleichen. Dazu wurden gesondert Brühwürste, Kochwürste, Rohwürste, Schweinefleisch, Rindfleisch, Hühnerfleisch, Streichwürste, Fertiggerichte, Milchprodukte und auch Sojaprodukte untersucht.

Wurstwaren (Kochwurst, Brühwurst usw.). — Für die Methodenerstellung der Wurstwaren wurden zunächst die Kochwürste, Brühwürste und Rohwürste getrennt voneinander untersucht. Als Optimierungsparameter wurde die Einwaage, als auch die Bindungszeit herangezogen. Abhängig vom Proteingehalt der verschiedenen Proben konnte eine Einwaage bei den Wurstwaren von 0,3 bis 1 Gramm ermittelt werden. Als optimale Bindungszeit wurde 90 Sekunden festgestellt.

Brühwurst. — Der Proteingehalt dieser Wurstart liegt zwischen 10 und 15 Prozent. Die optimale Einwaage wurde mit 0,9 bis 1,0 Gramm ermittelt. Zur Analyse wurden 5 verschiedene Brühwürste untersucht, wobei die oben genannten Parameter variiert wurden. Wie in Abbildung 2 ersichtlich, konnten sowohl mit Kjeldahl als auch mit SPRINT vergleichbare Ergebnisse erzielt werden.

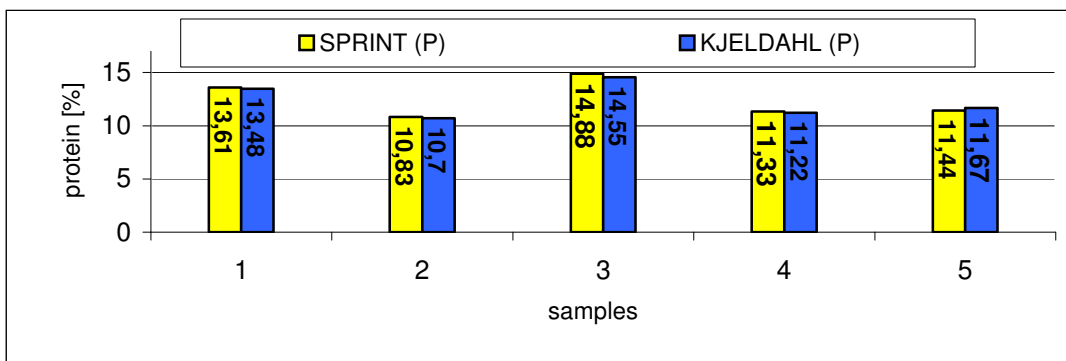


Abbildung 2: Vergleich der Proteinbestimmung Sprint und Kjeldahl bei Brühwürsten.

Kochwurst. — Der Proteingehalt dieser Wurstart liegt zwischen 17 und 22 Prozent. Die optimale Einwaage betrug 0,6 bis 0,7 Gramm. Im Rahmen der Vergleichsanalyse konnte auch hier eine gute Korrelation erkannt werden (Abbildung 3).

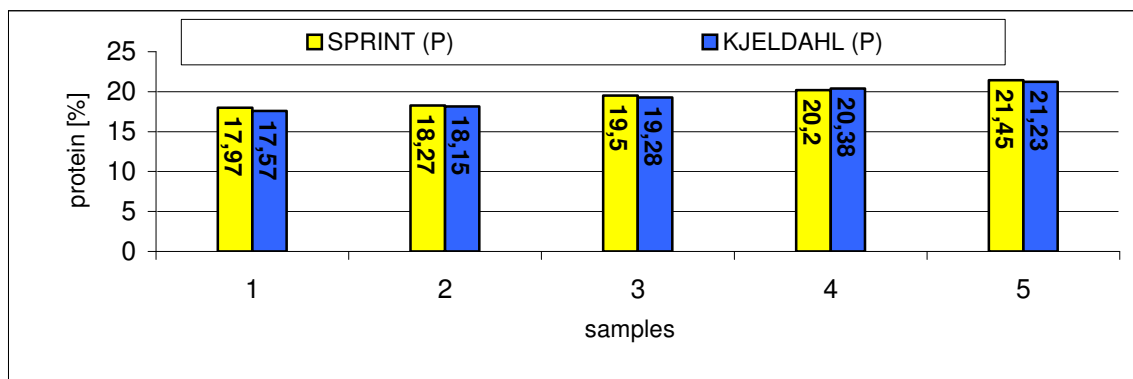


Abbildung 3: Vergleich der Proteinbestimmung Sprint und Kjeldahl bei Kochwürsten.

Milch- und Milchprodukte. — Unter Verwendung eines anderen internen Homogenisators, der speziell für flüssige Matrices geeignet ist, konnte auch in diesem Fall eine gute Übereinstimmung festgestellt werden. Es wurden 5 verschiedene Milchprodukte untersucht (Milch, Joghurt und Topfen). Der Proteingehalt reicht von 1 bis 11 Prozent. Dies entspricht einer optimalen Einwaage von 1,5 bis 2 Gramm. Wie in Abbildung 4 gezeigt, konnten die Sprintergebnisse vergleichbare Ergebnisse liefern.

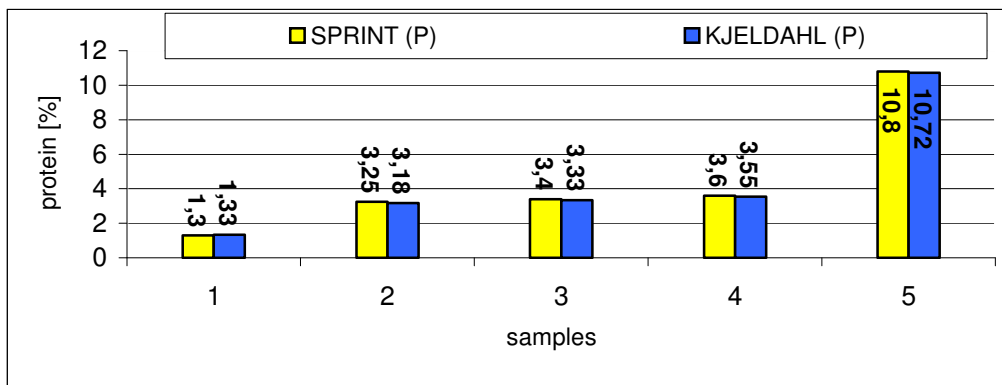


Abbildung 4: Vergleich der Proteinbestimmung Sprint und Kjeldahl bei Milchprodukten.

Fertiggerichte.— Ein Vergleich der Ergebnisse ist in Abbildung 5 dargestellt. Die optimale Einwaage lag bei 1 bis 1,2 Gramm bei einer Homogenisierungs-/Bindungszeit von 90 Sekunden.

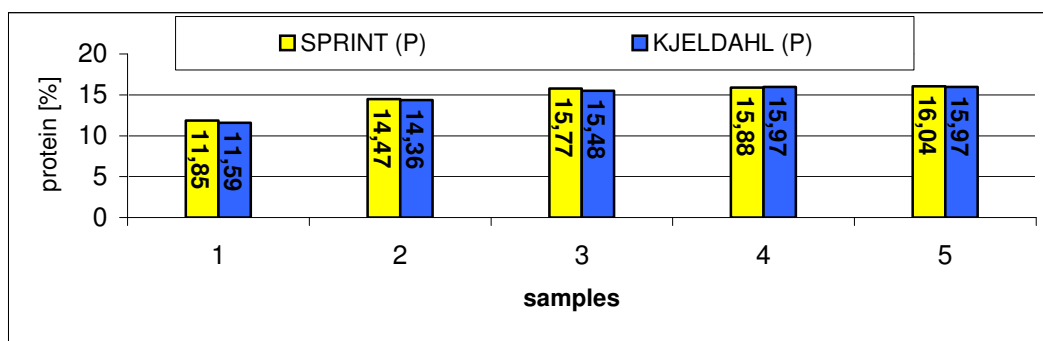


Abbildung 5: Vergleich der Proteinbestimmung Sprint und Kjeldahl bei Fertiggerichten.

Sojaprodukte.— Die optimale Einwaage lag bei 1 bis 1,2 Gramm und 90 Sekunden Homogenisierungs/-Bindungszeit. Es wurden 5 verschiedenen Sojaprodukten untersucht. Eine gute Vergleichbarkeit der Ergebnisse konnte bestätigt werden (Abbildung 6).

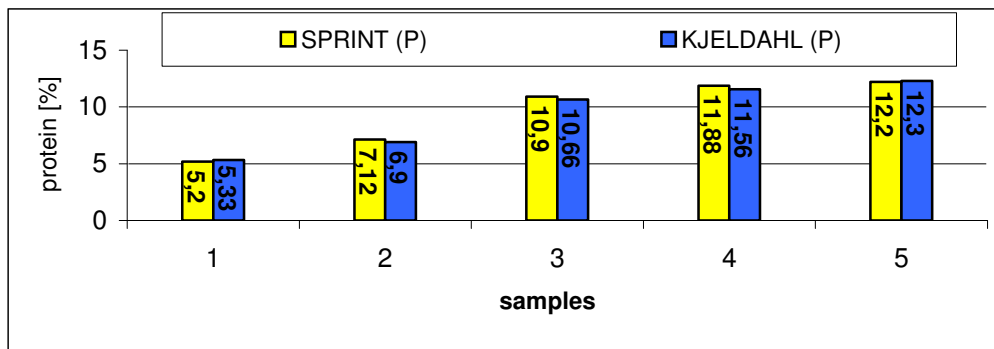


Abbildung 6: Vergleich der Proteinbestimmung Sprint und Kjeldahl bei Sojaprodukten.

ZUSAMMENFASSUNG

Als Ersatzmethode für die Kjeldahl Standardmethode sind vergleichbare Ergebnisse eine zwingende Voraussetzung. Vergleichsmessungen zeigten, dass genau diese Anforderungen mit der iTAG SPRINT Methode erfüllt werden. Die Durchführung der SPRINT Analyse ist im Vergleich zur Standardmethode Kjeldahl wesentlich einfacher und rascher durchzuführen. Zudem arbeitet man bei der SPRINT-Methode mit ungefährlichen Reagenzien. Durch die einfache Anwendung dieses Gerätes ist es somit möglich schnellste und präziseste Anwendung zu garantieren.

REFERENZ

- [1] Reprinted from American Laboratory, October 2008
- [2] Proteinbestimmung mit iTAG – Steuerung der laufenden Produktion, 2008, Sengutta, DMW 17, 635-636
- [3] Taschenbuch der Chemie, Thieme Verlag, 2006