

OTDK DOLGOZAT

Mátyás Berény András

Debrecen

2013

**Debreceni Egyetem Agrár- és Gazdálkodástudományok Centruma
Mezőgazdaság-, Élelmiszertudományi és Környezetgazdálkodási Kar**

Élelmiszertudományi, Minőségbiztosítási és Mikrobiológiai Intézet

Intézetvezető: Prof. Dr. Kovács Béla

**Magas fehérjetartalmú különleges táplálkozási célú élelmiszerek
fehérjetartalmának vizsgálata**

Készítette:

Mátyás Berény András Élelmiszermérnök BSc hallgató

Témavezető:

Andrási Dávid egyetemi tanársegéd

Debrecen, 2013.

Tartalomjegyzék:

BEVEZETÉS	3
1. TÉMAFELVETÉS	4
2. SZAKIRODALMI ÁTTEKINTÉS	4
2.1 Étrend-, vagy táplálékkiegészítők és különleges táplálkozási célú élelmiszerek.....	5
2.2 Hogyan készül a tejsavó fehérje?	7
2.2.1 Gyártási folyamat	8
2.2.1.1 A szétválasztás elve, a membránok típusai, a membrános eljárások csoportosítás	10
2.2.1.2. A diaszűrés művelete és típusai	15
2.2.1.3 A mikroszűrés, az ultraszűrés, a fordított ozmózis és az elektrodialízis szerepe a tejiparban	16
2.3 A savófehérjék kémiai összetétele	17
2.3.1 A biológiai érték.....	18
2.4 A savófehérjék kedvező élettani hatásai	19
3. ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK	21
3.1 A minták.....	21
3.2 Biuret-próba	25
3.2.1 Mintaelőkészítés.....	25
3.2.2 Biuret-reagens összetétele	26
3.3.3 Mérés menete	26
3.3 Nessler-módszer	28
3.4 Kjeldahl-módszer	30
4. EREDMÉNYEK ÉS ÉRTÉKELÉSÜK	32
4.1 A Biuret-próba eredményei	32
4.2 A Nessler-módszer eredményei	35
4.3 A Kjeldahl-módszer eredményei.....	35
4.4 A módszerek eredményeinek összehasonlítása.....	36
5. KÖVETKEZTETÉSEK ÉS JAVASLATOK	40
5.1. A vevői bizalom növelésének lehetősége.....	41
ÖSSZEFOGLALÁS	45
KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS	46

IRODALOMJEGYZÉK.....	47
-----------------------------	-----------

Bevezetés

Modern és rohanó világunkban egyre kevesebb időnk jut odafigyelni az egészséges, helyes, kiegyensúlyozott táplálkozásra. A táplálékkiegészítők olyan élelmiszerek, melyekkel kényelmesen pótolhatjuk az elmulasztott, vagy rosszabb minőségű, feldolgozott élelmiszerekből hiányzó vitaminok, fehérjék, és más hasznos anyagok bevitelét.

A különleges táplálkozási célú élelmiszerek piacának legfőbb termékei a különféle magas fehérjetartalmú fehérjekészítmények, melyek készülhetnek tej-, tejsavó-, szója-, illetve egyéb más fehérjeforrásokból is. Ezen termékek nemcsak sportcélokra használhatóak, hanem bármilyen egyéb diétába beilleszthetőek, illetve fehérjeszükségletünket pótolhatjuk velük.

Sajnos a különleges célú étrendkiegészítőket rengeteg előítélet éri, melyek szerint ezen termékek az egészségünkre ártalmasak:

„... a fehérjeporok teljesen szükségtelenek, sőt a túlzott fehérjebevitel veseproblémákat okoz. Sajnos a termékek minősége sem megfelelő, sokszor kollagénfehérjéből áll, amit bőrkézből, porcból, és vágóhídi hulladékból vonnak ki.”[11]

„Én igazából azon a véleményen vagyok, hogy a fehérje "cuccok" dopping szerek, semmi szükség arra, hogy az izmot ezekkel kellene segíteni a fejlődésben. Sok káros hatásukról hallottam már: vese-, májkárosító, impotencia okozó.” [12]

Ezen fenti állítások alapja lehet például a Kínában kitört melaminnal szennyezett tejpor botránya [13], vagy az USA-ból származó DMAA¹-val szennyezett táplálékkiegészítőkhöz kötődő botrány [14], ám az Európai Unión belül olyan szigorú ellenőrzések alá vetik ezeket a termékeket, melynek köszönhetően a boltok polcaira csak az kerülhet, amiben tényleg az van, amit a csomagolásán feltüntettek.

Dolgozatom a magas fehérjetartalmú különleges célú táplálék kiegészítőkről, azok fehérjetartalmának meghatározásáról, a különböző módszerek eredményeinek összehasonlításáról, és egy egyszerű nyomonkövethető rendszer kialakításának alapjairól szól.

Munkám célja, hogy a téves előítéleteket eloszlassam ezekről a termékekről, és az alkalmazott analitikai módszerek eredményeit összehasonlíthassam egymással.

¹ 1,3-dimetilamilamin

1. Témafelvetés

Témaválasztásomat több szempont is indokolta:

- A sportcélú táplálékkiegészítők piaca rendkívül nagy részesedéssel bír (világszerte 91,8 milliárd USD [I5]), mely nem elhanyagolható, így ez a termékcsoport is kitüntetett figyelmet érdemel.
- Rengeteg előítélet éri a „fehérjeporokat”, miszerint nem egészségesek, veseproblémákat, esetleg impotenciát okozhatnak [I2], így fontos, hogy eloszlassuk ezeket a téves feltevéseket. Ennek érdekében több módszerrel is meghatároztam mintáim fehérjetartalmát, különös figyelmet szentelve arra, hogy olyan módszerrel is dolgozzak, mely csak a tényleges fehérjekoncentrációt adja eredményül. Ezzel kiszűrhető volt, hogy van-e a termékekben a fehérjéken kívül más N-tartalmú komponens is.
- A fehérjekoncentráció meghatározásához használt módszerek eredményeinek összehasonlítása jó információt nyújt a módszerek pontosságáról, továbbá kiváló alternatívát jelenthetnek a standardként használt Kjeldahl-módszerrel szemben.
- Mivel sok előítélet éri a táplálékkiegészítőket, így fontos, hogy a vevői bizalom növelése érdekében egy könnyű nyomonkövethetőségi rendszert, illetve annak alapjait dolgozzam ki, mely segítségével könnyen utánakereshetünk a termékünk laboratóriumban lemért fehérjetartalmának.

2. Szakirodalmi áttekintés

Szakirodalmi áttekintésként a nagyobb egységektől egészen a kisebbekig haladva, előbb a táplálékkiegészítők, és különleges táplálkozási célú élelmiszerek fogalmát vázolnám fel, és szemléltetném a kettő közötti különbséget. Ezt követően a mintáim legnagyobb részét alkotó tejsavófehérjéről és változatairól, azoknak gyártási folyamatáról, élettani hatásáról, és a bevezetésben írt előítéletek cáfolatáról szeretnék információkat adni.

2.1 Étrend-, vagy táplálékkiegészítők és különleges táplálkozási célú élelmiszerek

Étrend-kiegészítők

„Az **étrend kiegészítők** a hazánkban is érvényben levő európai uniós szabályozás szerint olyan **élelmiszerek**, amelyek a hagyományos étrend kiegészítését szolgálják, és **koncentrált formában tartalmazznak tápanyagokat vagy egyéb táplálkozási vagy élettani hatással rendelkező anyagokat, egyenként vagy kombináltan. Megjelenési formájuk** kapszula, pasztilla, tablettá, port/szirupot tartalmazó tasak, folyadékot tartalmazó ampulla, csepegtető üveg, vagy más hasonló forma, amely por illetve folyadék kis mennyiségben történő adagolására alkalmas.

Az **étrend kiegészítőkről szóló 37/2004. (IV.26.) ESZCSM rendelet** értelmében a tápanyagok alatt vitaminok vagy ásványi anyagok értendők. Országunk területén csak az említett rendelet előírásainak megfelelő étrend-kiegészítő hozható forgalomba, a végső fogyasztó számára kizárólag előre csomagolt formában.

Az étrend kiegészítők nem keverendők össze a különleges táplálkozási célú élelmiszerek néhány csoportjával, például a sportolóknak és nehéz fizikai munkát végzőknek szánt termékekkel (közismert nevükön „sport tápszerek”, „body porok, turmixok”) vagy a testtömeg csökkentés céljára szolgáló csökkentett energiatartalmú készítményekkel (köznapi nevükön fogyókúrás porok), amelyek többnyire napi egy, esetleg két étkezés helyettesítésére szolgálnak.

Az étrend kiegészítőkről szóló EU irányelveknek megfelelően, a 37/2004 (IV. 26.) ESZCSM rendelet életbe lépésével megszűnt az előzetes, kötelező engedélyezés és helyette csak ún. **bejelentési (notifikáció) kötelezettség van**, ami nem jelent más, mint a termék címkéjének és adatlapjának benyújtását az OÉTI²-hez, legkésőbb a termék piacra helyezésének napján. A rendszer nem alkalmas a termék forgalomba kerülésének megakadályozására, csak a piacfelügyeleti munkát segíti elő azzal, hogy probléma, veszély észlelésekor azonnal értesítést kap az Állami Népegészségügyi és Tisztiorvosi Szolgálat (ÁNTSZ), a további intézkedések megtétele céljából. Több európai uniós tagállam még a notifikáció lehetőségével sem él, a hatósági munka kizárólag a panaszbejelentésekre, vagy szűrőpróbaszerű ellenőrzésekre épít [I6].

² Országos Élelmezés- és Táplálkozástudományi Intézet

A különleges táplálkozási célú élelmiszerek a 36/2004. (IV. 26.) ESZCSM keretrendelet értelmében, olyan élelmiszerek, amelyek különleges összetételük, vagy az előállításuk során alkalmazott különleges eljárás következtében megfelelnek a meghatározott táplálkozási céloknak, egyértelműen megkülönböztethetők az általános közfogyasztásra készült élelmiszerektől és az erre való alkalmasságuk egyértelműen kifejezésre jut jelölésük, forgalomba hozataluk során.

A különleges táplálkozási célú élelmiszerek ki kell elégítenie:

- az olyan fogyasztók speciális táplálkozási igényeit:
 - akik emésztési vagy anyagcserezavarban szenvednek
 - akiknek sajátos élettani állapotuk miatt bizonyos anyagok ellenőrzött mértékben történő fogyasztása előnyös
- valamint az egészséges csecsemők és kisgyermekek speciális táplálkozási igényeit.

Külön, termék-specifikus rendelettel is szabályozott termékcsoporthaj:

- anyatej-helyettesítő és anyatej-kiegészítő tápszerek (20/2008 (V. 14.) Eüm rendelet)
- a speciális gyógyászati célra szánt tápszerek (24/2003. (V. 9.) ESZCSM rendelet)
- a csecsemők és kisgyermekek számára készült feldolgozott gabona alapú élelmiszerek és bébiételek (35/2004. (IV. 26.) ESZCSM rendelet)
- a testtömegcsökkentés céljára szolgáló, csökkentett energiatartalmú étrendben felhasználásra szánt élelmiszerek (27/2004. (IV: 24.) ESZCSM rendelet)
- a glutén-érzékenyeknek szánt élelmiszerek (41/2009/EK Bizottsági rendelet)

Külön, termék specifikus rendelettel nem szabályozott termékcsoporthaj:

- Nagy izomerő kifejtését elősegítő, elsősorban sportolóknak, nehéz fizikai munkát végzőknek szánt élelmiszerek
- Szénhidrát anyagcserezavarokban szenvedők számára készült élelmiszerek

A magyarországi forgalmazás megkezdésének napjáig az OÉTI-be kötelezően bejelentendő különleges táplálkozási célú élelmiszer termék-csoportok:

- anyatej helyettesítő tápszerek
- speciális gyógyászati célra szánt élelmiszerek
- glutén-érzékenyeknek szánt élelmiszerek
- egyéb (a különleges táplálkozási célú élelmiszerek csoportosításban nem szereplő készítmények)

A bejelentéshez a termék magyar nyelvű címketerve (pótcímkés termék esetén a magyar nyelvű pótcímke és az eredeti címke) és a 36/2004. (IV: 26.) ESZCSM rendelet 4. Számú mellékletének kitöltése és elküldése szükséges [17].”

A fenti rendeletek, és az OÉTI által megadott definíciók szerint különbség tehető étrend-, vagy táplálék-kiegészítő és különleges táplálkozási célú élelmiszerek között. Az előzményekből látható, hogy ezen speciális élelmiszereknek a szabályozása nem olyan szigorú, mint más alapélelmiszerek, vagy gyógyszerek esetén. A kötelező procedúrák után, mint amilyen a termék bejelentése, tulajdonképpen csak szűrőpróbaszerű ellenőrzések mennek végbe. Ez a lazább szemlélet sajnos okozhat fenntartásokat, vagy bizonytalanságot a terméket illetően a fogyasztókban, aminek orvoslása sajnos a gyártók feladata marad.

2.2 Hogyan készül a tejsavó fehérje?

A tej fehérjetartalmának két frakciója van, a tejsavó-fehérje és a kazein fehérje. A tejsavó a sajtgyártás mellékterméke. Az a híg halványsárga folyadék, ami kiválik a sajt gyártása során, a tejsavó. A savófolyadék fehérjetartalma 0,7 %. Szűrési technológia nélkül savóport gyárthatnak, aminek 11-13 % a fehérjetartalma. A tejsavót különféle módokon szűrhetik, ez határozza meg a végtermék fehérje tartalmát. A feldolgozás során a zsírt és a laktózt (tejcukrot) eltávolítják. Minél magasabb fehérje koncentrációt szeretnénk elérni, annál nagyobb mértékű szűrést kell végezni, ami magasabb költséget is jelent. Ha a koncentráció eléri vagy meghaladja a 88 %-ot akkor az izolátumnak tekinthető, míg ha attól kevesebb, akkor az koncentrátum. A szűrés során az alacsony molekulású összetevők, mint a laktóz, ásványi anyagok és vitaminok eltávolításra kerülnek, és így létrejön a koncentrátum. A szűrést követően a tejsavót pasztörizálják, a felesleges nedvességet elpárologtatják, és végül porítják.

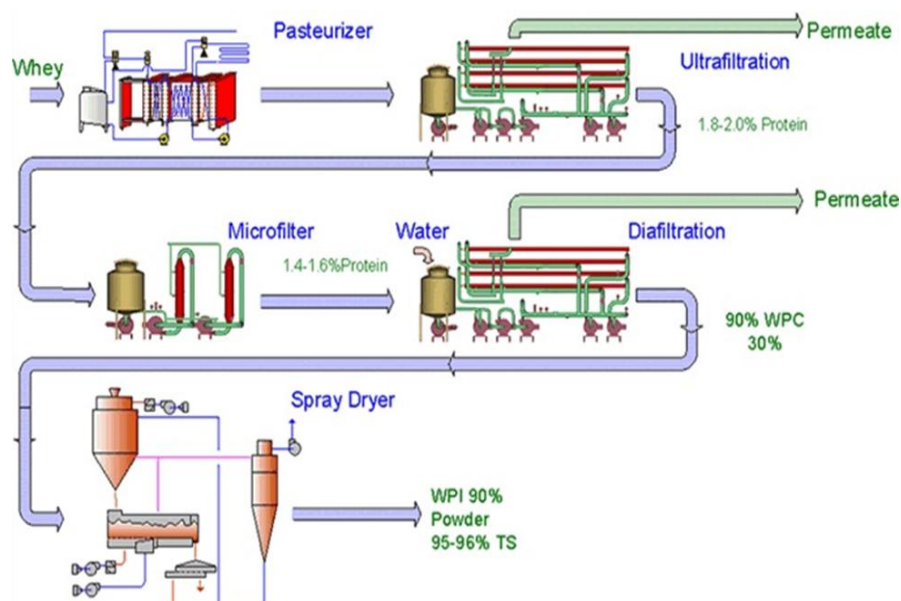
A szárítást alacsony hőmérsékleten kell végezni, hogy a fehérje denaturációját elkerüljék. A tejsavó szűrése a következő módokon végezhető:

- 1, Mikroszűrés
- 2, Ultraszűrés
- 3, Ioncserélés
- 4, CFM (Cross Flow Microfiltration) Keresztáramú mikroszűrés.

Mivel a tejsavó fehérje gyártás műszaki berendezései nagyon drágák, és a működtetésük igen energiaigényes, ezért nincs is ilyen minden országban. A legtöbb táplálék kiegészítő termékeket gyártó -és forgalmazó cég nem rendelkezik ilyen tejipari technológiával, hanem a natúr tejsavó fehérjét vásárolják meg, és ehhez keverik hozzá saját receptúrájuk szerint a különböző szénhidrátokat, poraromákat, édesítőszereket, vitaminokat és ásványi anyagokat [18].

2.2.1 Gyártási folyamat

A tejfehérje és a savófehérje-koncentrátum por előállítása annyiban különbözik a sovány tejpor gyártásától, hogy az alapanyagot (sovány tej, fölözött, alvadékpórtól elválasztott savó) a pasztörözést, hűtést követően a ultraszűrik, ill. diaszűrik, majd a koncentrátumot ismételtlen hőkezelik (lásd: 1. ábra [19]).



1. ábra

A tejsavó fehérje gyártásának alpműveletei

A különböző szétválasztási technikák alkalmazásával lehetőség nyílik a vízelvonáson túl a savó szárazanyag-tartalmának frakcionálására, ezáltal nagyobb hozzáadott értékkel rendelkező termékek gyártására.

A membrános eljárások közé tartozó ultraszűréssel a savófehérjék elválaszthatók a kisebb méretű tejcukortól és ásványi anyagoktól, így eltérő fehérjetartalmú savófehérje-koncentrátumok és -izolátumok állíthatók elő, melyeket általában por formájában hoznak forgalomba.

A kereskedelembe kapható *savófehérje-koncentrátumok* (whey protein concentrate, WPC) elnevezésében található szám (pl. WPC-35, WPC-80) adja meg a koncentrátum szárazanyag-tartalmára vonatkoztatott százalékos fehérjetartalmat. A termékben lévő fehérje mennyiségének növekedésével arányosan csökken a laktóz mennyisége (1. táblázat).

1. táblázat
Különböző fehérjetartalmú savófehérje-koncentrátumok összetétele

Alkotórészek	Koncentráció a termékben [%]			
	WPC-35	WPC-50	WPC-80	WPC-90
Valódi fehérjék	30,7	45,3	75,0	88,9
Nemfehérje N-vegyületek	2,9	2,7	1,8	1,1
Tejcukor	52,1	37,7	9,4	3,8
Sav	1,4	1,1	0,3	0,1
Hamu	6,3	5,5	3,2	1,8
Zsír	2,6	3,8	6,2	0,3
Nedvesség	4,0	4,0	4,0	4,0

Forrás: www.geafiltration.com

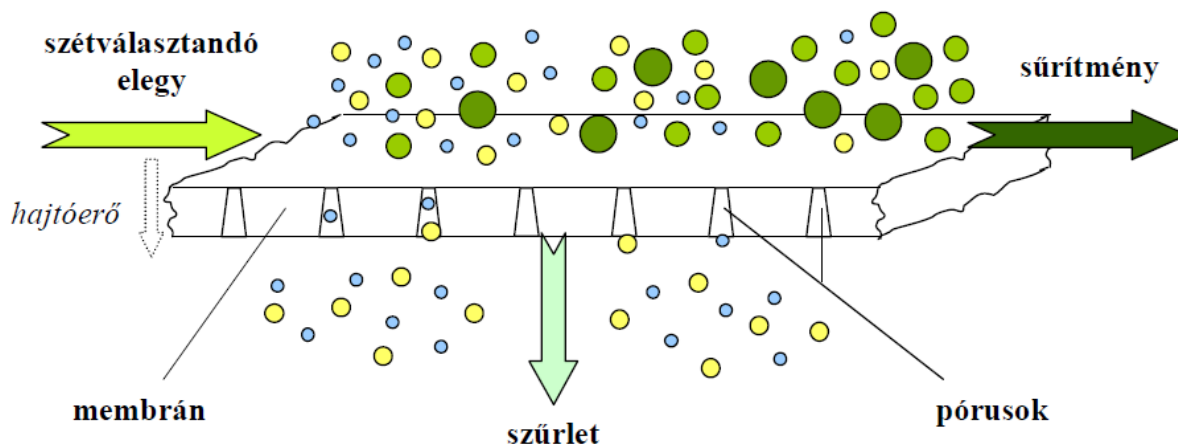
A *savófehérje-izolátumok* (WPI) nagyobb tisztaságúak, mint a koncentrátumok, bennük a szárazanyagra vonatkoztatott fehérjetartalom legalább 90 %. Amennyiben a savófehérjék részaránya a termékben 70 %-nál nagyobb, az ultraszűrést diaszűréssel kell kombinálni, hogy a kívánt tisztasági fokot (a fehérjékre nézve) biztosítani tudjuk.

A savófehérjék a kedvező élettani hatáson túl számos olyan tulajdonsággal rendelkeznek (fizikokémiai funkcionalitás), melyeket ki lehet aknázni egy adott élelmiszer előállításakor: vízdoldhatóság széles pH-tartományban (pH 2-től 10-ig), habképző tulajdonság – gázbuborékok stabilizálása a folyadékban, gélképző tulajdonság –háromdimenziós fehérje-háló kialakításával, emulgeáló hatás – hidrofil és hidrofób élelmiszerösszetevők emulziójának stabilizálása, vízkötőképeség. A kisebb fehérjetartalmú készítményeket pl. tejipari és sütőipari termékekben használják fel, a nagy tisztaságúakat a húsiparban, illetve gyógyhatású és kisgyermekeknek készített élelmiszerekben (DEWIT et al. 1988, ONWULATA és HUTH 2008, MORR és HA 1993, SMITHERS 2008).

Jelenleg a legnagyobb hozzáadott értékkel rendelkező tejsavó-származékok közé a savófehérje-hidrolizátum, az önálló savófehérje- és savópeptid-frakciók és a tejcukorszármazékok tartoznak. A *savófehérje-hidrolizátumban* (WPH) a savófehérjéket enzimes úton peptidekre és aminosavakra hidrolizálják, emészthetősége könnyebb, mint a fehérjéké, és tehéntejfehérje-allergiában szenvedő gyermekek is fogyaszthatják (SINHA et al. 2007) – bár a hidrolizátum is válthat ki allergiás reakciót. A savófehérjék és -peptidek frakcionálása a membránszeparációs műveletek mellett megoldható pl. szelektív kicsapással és kromatográfias eljárásokkal (ETZEL 2004, ZYDNEY 1998).

2.2.1.1 A szétválasztás elve, a membránok típusai, a membrános eljárások csoportosítása

A membrános műveletek általános elve a 2. ábrán látható. A szétválasztandó elegyet vagy más néven betáplálási elegyet (feed) a membránmodulban található membrán felületére vezetik. A membrán által visszatartott komponensek fogják alkotni a sűrítmenyt vagy retentátumot (retentate), míg a membránon átáramlott komponensek a szűrletet vagy permeátumot (permeate). A technológiai céltól függően mind a szűrlet, mind a sűrítmeny lehet a végtermék. A membránon keresztüli anyagtranszportához szükséges feltétel, hogy legalább egy intenzív fizikai mennyiség nagysága eltérő legyen a sűrítmenyben és a szűrletben. Az adott intenzív fizikai mennyiség inhomogén eloszlása fogja adni a szétválasztási folyamat hajtóerejét, melynek hatására anyagáram indul meg a sűrítmeny és a szűrlet között a membránon át. A hajtóerő lehet a retentátum és permeátum oldal közötti nyomásgradiens, koncentráció-gradiens, hőmérséklet-gradiens vagy elektromos potenciál-gradiens. Folytonos üzemű membrános műveleteknél a hajtóerő nagysága állandó, míg szakaszos üzemű műveletek esetén változhat.



2. ábra

A membrános szétválasztó műveletek elve pórusos membrán példáján keresztül bemutatva

A membránszeparációs eljárások a régebb óta használatos elválasztási technikákhoz képest számos előnnyel rendelkeznek, melyek a következők:

- Üzemeltetési energiaigényük általában kicsi, a szétválasztás alacsony hőmérsékleten (pl. szobahőmérsékleten) is megvalósítható
- Az alacsony hőmérséklet alkalmazása miatt kíméletes eljárások, a hőérzékeny anyagok károsodása jelentősen csökkenthető, kiváló minőségű termékek állíthatók elő
- A szétválasztáshoz adalékanyagokat nem igényelnek, környezetbarát technológiák
- Működtetésük egyszerű, a méretnövelés és –csökkentés könnyen kivitelezhető
- Jól illeszthetők más műveletekhez, az így létrejött "hibrid" eljárások az iparban nagyon elterjedtek

A hátrányok között meg kell említeni a berendezések magas beruházási költségét, a membránok viszonylag rövid élettartamát, valamint a szétválasztandó elegy előkezelésének szükségességét, mellyel a membrán eltömődésének és a koncentráció-polarizációnak a mértéke csökkenthető. A membránok különböző térbeli elrendezését és azok burkolatát, amik alkalmassá teszik őket egy adott szétválasztási művelet végrehajtására, membránmodulnak nevezzük. Egy-egy modulfajta többféle membrános technológia során is használatos.

A lapmodul (*plate and frame* vagy *flat sheet*) egymással párhuzamosan elhelyezett membránlapokat tartalmaz, melyek különböző alakúak lehetnek, és távtartók választják el

egymástól őket. Ezen modultípus előnye az egyszerű szerkezet, hátránya viszont, hogy kevés az egységnyi térfogatra eső szűrőfelülete. A hátrány orvosolható úgynevezett spiráltekercs modulok (spiral wound) használatával, ahol egy vagy több, három oldalán zárt, lapmembrán-párból álló szűrőtáska van spirálisan feltekerve és rögzítve egy központi, perforált permeátum-elvezetőcsőre. A spiráltekercs modulon azonban jelentősebb a nyomásesés, mint a lapmodulon.

A csőmodul (tube) állhat egy darab, vagy több, párhuzamosan futó membráncsőből. Alacsony transzmembrán nyomáskülönbség esetén alkalmazható, és meglehetősen kicsi a fajlagos szűrőfelülete. A kapillárcsöves és üreges szál (hollow fiber) modulokat sok kis membráncsővecskéből álló köteg alkotja, utóbbi modul esetén egy csővecske átmérője mindössze 0,05 mm és 0,4 mm között változik. Ennél a két modulnál érhető el a legnagyobb fajlagos membránfelület. A lapmodul és a csőmodul előnye, hogy bennük turbulens áramlás is elérhető, valamint kevésbé érzékenyek az eltömődésre, mint a spiráltekercs, kapillárcsöves és üreges szál modulok, így könnyebben is tisztíthatók.

Napjainkban leginkább keresztáramú (cross-flow) üzemmódban működtetnek egy modult, ahol a betáplált elegy áramlási iránya párhuzamos a membrán felületével (a 2. ábrán is ilyen áramoltatás látható), szemben a hagyományos (dead-end) üzemmóddal, ahol az áramlás iránya merőleges a membrán felületére. Utóbbi esetben az eltömődés mértéke jóval nagyobb, a képződő szűrőlepenyt el kell távolítani a membrán felületéről. A membrános műveleteket szokás csoportosítani az alkalmazott membrán típusa és pórusmérete, a folyamat hajtóereje, az anyagtranszport mechanizmusa és az egymástól elválasztott összetevők alapján is. Az iparban használatos eljárásokat és azok főbb jellemzőit az 2. táblázat tartalmazza.

2. táblázat: A membrános műveletek fajtái és jellemzői STRATHMANN et al. (2006) nyomán

Művelet	Hajtóerő	Anyagvándorlás mechanizmusa	Membránon áthaladó komponensek	Visszatartott komponensek
Mikroszűrés (MF)	nyomásülönbség 0,05 – 0,5 MPa	konvekció, szitahatás	oldószer (víz), oldott anyagok ($<0,1 - 10 \mu\text{m}$)	lebegő anyagok, baktériumok, lipidek, nagyobb kolloidok
Ultraszűrés (UF)	nyomáskülönbség 0,1 – 0,8 MPa	konvekció, szitahatás	oldószer (víz), oldott anyagok ($<1 - 500 \text{ kDa}$)	vírusok, fehérjék, makromolekulák, kolloidok
Nanoszűrés (NF)	nyomáskülönbség 0,3 – 3 (4) MPa	szitahatás, oldódás-diffúzió, Donnan-hatás	oldószer (víz), egy vegyértékű ionok	cukrok, több vegyértékű ionok
Fordított ozmózis (RO)	nyomáskülönbség 1 – 10 MPa	oldódás-diffúzió	oldószer (víz)	egy vegyértékű ionok
Gázseparáció (GS)	nyomáskülönbség 0,1 – 10 MPa	oldódás-diffúzió, Knudsen-diffúzió	kis moláris tömegű vagy könnyen diffundáló gázmolekulák	nagy moláris tömegű vagy nehezen diffundáló gázmolekulák
Pervaporáció (PV)	gőznyomás- különbség	oldódás-diffúzió	könnyebben diffundáló szerves vagy szervetlen komponensek	nehezebben diffundáló szerves vagy szervetlen komponensek
Dialízis (D)	koncentráció- különbség	diffúzió	ionok és kis moláris tömegű részecskék	a pórusnál nagyobb méretű részecskék
Elektrodialízis (ED)	elektromos potenciál- különbség	Donnan-hatás	ionok, töltéssel rendelkező részecskék	töltéssel nem rendelkező részecskék
Membrán- desztilláció (MD)	hőmérséklet- különbség	diffúzió	illékony komponensek (gőzök)	nem illékony komponensek
Ozmotikus desztilláció (OD)	ozmózisnyomás- különbség	diffúzió	illékony komponensek (gőzök)	nem illékony komponensek
Membrán- extrakció (ME)	koncentráció- különbség	diffúzió	az extraháló oldószerben jól oldódó komponensek	az extraháló oldószerben nem jól oldódó komponensek

Művelet	Hajtóerő	Anyagvándorlás mechanizmusa	Membránon áthaladó komponensek	Visszatartott komponensek
Membrán-abszorpció (MA)	koncentráció-különbség	diffúzió	a folyadék fázisban oldódó illékony komponensek (gázok, gőzök)	a folyadék fázisban nem oldódó illékony komponensek (gázok, gőzök)
Támasztóréteges folyadék membránok (SLM)	koncentráció-különbség	diffúzió	ionok, gázok, szerves vegyületek	nehezen diffundáló komponensek
Membrán reaktorok (MR)	az alkalmazástól függ	az alkalmazástól függ	az adott membránon áthatolni képes termék(ek)	az adott membránon áthatolni nem képes reagentek

2.2.1.2 A diaszűrés művelete és típusai

A *diaszűrés* (diafiltration, DF) olyan eljárás, ahol – általában ultraszűrő membránokat használva a szétválasztáshoz – a sókat és a kis molekulatömegű oldott anyagokat szeretnénk eltávolítani részben vagy teljesen a betáplálási elegyből. A szeparáció alapja a szitahatás, vagyis az eltávolítandó komponenseknek kisebb méretűnek kell lenniük, mint a membrán pórusainak átmérője. A diaszűrés alapvetően abban különbözik pl. az ultraszűréssel történő besűrítéstől, hogy előbbi esetben a szétválasztandó elegyet ún. dializáló oldószerrel (pl. ionmentes vízzel) hígítjuk, így a retentátum a membrán által visszatartott komponens(ek)re nézve tetszőleges mértékben ”tisztítható”, míg a pórusokon áthatolni képes összetevők folyamatosan ”kimosódnak belőle”. Az adott diaszűrési feladathoz a membránt úgy kell kiválasztani, hogy az általunk koncentrálni kívánt komponensekre nézve a visszatartása 100 % legyen, vagy minél jobban megközelítse ezt az értéket, a kivonandó összetevőkre nézve pedig a lehető legkisebb legyen. A diaszűrés műveletének hatékonyságát a membrán pórusméretén kívül a felhasznált dializáló oldószer mennyisége határozza meg: adott szelektivitású membrán esetén a dializáló oldószer mennyiségének növelésével javítható a ”kimosódás” mértéke. *Dialízisnél* (dialysis) szintén az a célunk, hogy a nemkívánatos anyagokat eltávolítsuk a kiindulási elegyből, ehhez azonban nempórusos membránt használunk (diaszűrésnél pórusos a membrán). A folyamat hajtóereje a komponensek koncentráció-gradiense lesz a membrán két oldala között, a szétválasztás pedig a szitahatás helyett a membrán anyagában történő oldódás mértékén és a diffúzió sebességén alapszik.

A dialízis és a diaszűrés egyik legfontosabb alkalmazási területe a művese-kezelés, ahol a beteg véréből távolítják el azokat a komponenseket, melyek felhalmozódása az egészséget veszélyeztetné. Ezen kívül sok iparágban – ahol szükség van folyadékáramok szeparálására (pl. gyógyszeripar, élelmiszeripar, biotechnológia, vegyipar) – használják őket szennyező összetevők eltávolítására és/vagy nagy tisztaságú termékek előállítására. A tejiparban elsősorban fehérje-koncentrátumok gyártásánál szükséges a diaszűrés a nagy tisztasági fok eléréséhez. Az ultraszűrő membránokon kívül mikroszűrő és nanoszűrő membránokat is lehet diaszűrési szétválasztás során használni (WANG et al. 2002).

2.2.1.3 A mikroszűrés, az ultraszűrés, a fordított ozmózis és az elektrodialízis szerepe a tejiparban

Mikroszűréssel (*microfiltration*) eltávolíthatók a tejből a zsírgolyócskák és a baktériumok sejtjei, melyek méretüknél fogva nem tudnak átjutni a membrán pórusain, így a retentátumban dúsulnak fel, míg a tej többi összetevője a szűrletbe kerül (BRANDSMA és RIZVI 2001, ELWELL és BARBANO 2006, LAWRENCE et al. 2008). A mikroszűréssel emiatt megvalósítható a tej hideg sterilizációja. Savófehérje-koncentrátumok (WPC) és -izolátumok (WPI) előállításakor szintén fontos, hogy a nagy tisztaság elérése érdekében a fenti részecskéket (valamint a kazein micellákat) elválasszuk a savófehérjétől (KARLESKIND et al. 1995). A szűrés során problémát jelent, hogy hamar kialakul a membrán sűrítmeny felőli oldalán egy másodlagos (dinamikus) membrán, amit a fehérjék és azok komplexei alkotnak. Ez a másodlagos szűrőréteg javítja a fehérjék visszatartását, a mikroszűrő membrán gyakorlatilag ultraszűrő membránként fog működni. A jelenség kialakulásának mértéke csökkenthető a retentátum áramlási sebességének növelésével és a transzmembrán nyomáskülönbség alacsony értéken tartásával (BLANPLAIN-AVET et al. 2009, GÉSAN et al. 1993)

Ultraszűrő (*ultrafiltration*) membránnal elválaszthatók egymástól a fehérjék és a tejcukor molekulái. Az ultraszűréshez alkalmazható membránok pórusmérete (kb. 0,01 μm – 0,1 μm) és visszatartása tág határok között változik, ezért megvalósítható a különböző mérettartományba eső fehérjék frakcionálása is (pl. a kazein és a savófehérjék elválasztása, savófehérjék frakcionálása). Az ultraszűrést elterjedten alkalmazzák magas fehérjetartalmú sűrítmenyek előállításakor, illetve tej- és savóalapú italok gyártásakor (ALMÉCIJA et al. 2007). A retentátum Ca-tartalma szintén magas lesz, hiszen a kalcium jelentős része a fehérjemolekulákhoz kötődik. Az ultraszűrés permeátumába a laktóz mellett nemfehérje-nitrogénvegyületek (NPN-vegyületek), kis moláris tömegű szerves savak és az oldatban lévő ionok kerülnek.

A szárazanyagra vonatkoztatva 70 %-nál nagyobb fehérjetartalmú termékek előállításához az ultraszűrő modult diaszűrési üzemmódban kell használni. A friss víz adagolása a sűrítmenyhez segíti a tejcukor és a sók "kimosását", ezáltal a nagyobb fehérje-tisztasági fok elérését (LUPANO et al. 1992).

2.3 A savófehérjék kémiai összetétele

A *savófehérjék* (whey proteins) a fehérjéknek meglehetősen heterogén csoportját alkotják (3. táblázat), a különböző savófehérje-frakcióknak nagyon kevés közös tulajdonsága van azon kívül, hogy akkor is oldott állapotban maradnak, amikor a kazein kicsapódik oldatából.

3. táblázat
A különböző fehérjefrakciók átlagos értékei tehéntejből származó savófehérjében
(CSAPÓ és CSAPÓNÉ KISS 2002, ETZEL 2004, ONWULATA és HUTH 2008)

Fehérjefrakció	Savófehérjén belüli részaránya [%]	Moláris tömege [kDa]
β -laktoglobulin	44-58	18
α -laktalbumin	13-22	14
Glükomakropeptidek	12-20	8,6
Szérumalbumin	4-8	66
Immunglobulinok	8-15	150
Laktoferrin	2-3	77
Laktoperoxidáz	0,5	78

A fehérjék építőkövei az aminosavak, melyek az egy-egy amino- és karboxilcsoport között létrejövő peptidkötés révén kapcsolódnak egymáshoz, kialakítva így a fehérjék elsődleges szerkezetét. Az egyszerű fehérjék felépítésében csak aminosavak vesznek részt, az összetett fehérjék az aminosavakon kívül nem fehérjerészt is tartalmaznak. *Esszenciális* (létfontosságú, nélkülözhetetlen) *aminosavaknak* azokat nevezzük, melyek az adott heterotróf szervezet számára szükségesek, de azokat szintetizálni nem, vagy csak elégtelen mennyiségben tudja, ezért a táplálékkal kell felvennie őket. A FAO/WHO³ ”megalkotott” egy olyan ideális referenciafehérjét, mely optimális mennyiségben és arányban tartalmazza az ember számára esszenciális aminosavakat.

Ennek a vonatkoztatási fehérjének, valamint a savófehérjének az esszenciális aminosav-összetétele a 4. táblázatban látható.

³ (Food and Agriculture Organization/World Health Organization 1973)

4. táblázat
Az ember számára esszenciális aminosavak mennyisége a FAO/WHO referenciafehérjében és a savófehérjében
(CSAPÓ és CSAPÓNÉ KISS 2002)

Esszenciális aminosav	Koncentráció [g aminosav/ 100 g fehérje]	
	referencia-fehérjében	savófehérjében
Triptofán (Trp)	1,0	2,1
Fenil-alanin + tirozin (Phe + Tyr)	6,0	7,3
Leucin (Leu)	7,0	11,1
Izoleucin (Ile)	4,0	6,8
Treonin (Thr)	4,0	8,0
Metionin + cisztein (Met + Cys)	3,5	4,8
Lizin (Lys)	5,5	9,9
Valin (Val)	5,0	6,8

A táblázat adataiból jól látszik, hogy a savófehérje rendkívül gazdag esszenciális aminosavakban. Külön említést érdemel a kéntartalmú aminosavak (SAA: metionin, cisztein) nagy koncentrációja, hiszen azokból több gyümölcs- és zöldségféle is (pl. hüvelyesek) keveset tartalmaz. A cisztein prekursora (előanyaga) a sejten belül termelődő (intracelluláris) antioxidáns hatású tripeptidnek, a *glutationnak*. A savófehérjében 20 % felett van az elágazó láncú aminosavak (BCAA: leucin, izoleucin, valin) aránya, melyek az izomszövet fehérjéinek kb. harmadát teszik ki és fontos szerepet játszanak a fehérjeszintézisben (HA és ZEMEL 2003). Az esszenciális aminosav-tartalmon kívül számos jelzőszám használatos egy fehérje minőségének jellemzésére, ezek egyike az ún. biológiai érték.

2.3.1 A biológiai érték

Az 5. táblázat néhány élelmiszer eredetű fehérje biológiai értékét tartalmazza. Egy fehérje *biológiai értéke* (biological value, BV) megmutatja, hogy az élelemként elfogyasztott, megemésztett fehérjét a szervezet milyen arányban tudja hasznosítani a saját fehérjei előállításához. A biológiai értéket százalékos és relatív formában is meg lehet adni, előbbi a megemésztett fehérjében lévő nitrogén százalékos hasznosulásán alapszik.

Utóbbi módszer esetén referenciának a korábban legkönnyebben hasznosítható fehérjének talált tojás fehérjét választották, annak adták a 100-as értéket, és a többi fehérje

biológiai értéket ehhez hasonlították (a tojás fehérjéje nem hasznosul 100 %-ban, vagyis a relatív biológiai érték 100-nál nagyobb szám is lehet).

A 5. táblázat alapján elmondható, hogy a savófehérje biológiai értéke a tojásfehérje értékét is túlszárnyalja. A savófehérjét nem teljesértékű – főként növényi eredetű – fehérjékhez keverve utóbbiak *komplettálhatók*, a különböző eredetű fehérjék kiegészítik egymást, a keverék biológiai értéke nagyobb lesz annál, mint amennyi az alkotórészeké külön-külön lenne (CSAPÓ és CSAPÓÉ KISS 2002, SZAKÁLY 2001).

5. táblázat
Élelmiszer-eredetű fehérjék és fehérjekeverékek relatív biológiai értékei SZAKÁLY (2001) nyomán

Fehérje eredete	Relatív biológiai érték [%]
Laktalbumin	104
Tojás	100
Tejfehérjék	91
Marhahús	80
Kazein	77
Disznóhús	74
Burgonya	71
Rizs	59
Búza	54
Bab	49
70 % laktalbumin + 30 % burgonya	134
75 % tejfehérje + 25 % búza	125
76 % tojás + 24 % tejfehérje	119
51 % tejfehérje + 49 % burgonya	114

2.4 A savófehérjék kedvező élettani hatásai

Napjainkban számos kutatás foglalkozik a tejsavóban igen nagy számban található *biológiailag aktív* (bioaktív) *fehérjék* és *peptidek* hatásmechanizmusának tanulmányozásával. Sok bioaktív komponens hatását eddig csak szövettényezeteken vagy állatkísérletek során igazolták, azonban az újabb publikációk egyre több komponens emberi szervezetre gyakorolt kedvező hatását támasztják alá.

A teljesség igénye nélkül az alábbi élettani hatásokat mutatták eddig ki: vérnyomáscsökkentés – ACE (angiotenzin-konvertáló enzim) gátlása, rákellenes (antikarcinogén) hatás, az immunrendszert befolyásoló hatások, opioid agonista (a morfinhoz hasonló) vagy opioid antagonist hatás, ásványianyag-megkötő képesség, antimikrobiális (baktérium- és vírusellenes) hatás, a gasztrointesztinális rendszer egészségének megőrzése, a vér koleszterolszintjének csökkentése, inzulintermelést serkentő hatás, memóriajavító hatás. A savó *immunglobulinjai* (ellenanyagai) passzív immunitást nyújtanak, részt vesznek az emberi szervezet idegen anyagokkal szembeni védekezésében. A *laktoferrin* és a belőle származó peptid, a *laktoferricin* vaskötő képességgel rendelkezik, antimikrobás hatásukat kétféleképpen fejtik ki: gátolják azon mikrobák szaporodását, melyek tápanyagként vasat igényelnek (sztatikus hatás), és közvetlenül a kórokozó szervezethez is kapcsolódhatnak segítve a sejtfal, illetve a sejtmembrán lebontását. A *laktoperoxidáz* nevű enzimnek szintén van antimikrobás hatása. A *növekedési faktorok* (growth factors) emlősök sejtjeinek osztódását segítik elő (GONZÁLEZ-CHÁVEZ et al. 2009, PARK 2009).

3. Anyagok és módszerek

3.1 A minták

Összesen 62 darab sportcélú fehérjekészítmény fehérjetartalmát vizsgáltam meg. A termékek közül 17 különálló minta szerepel, melyeknek az ismételési, ízváltozatai teszik ki a 62 mintának a számát. A mintákat ezen termékekre szakosodott kiskereskedelmi üzletekből vásároltam, vagy magánszemélyek felajánlásai útján jutottam hozzájuk. A mintákat leginkább a fehérjetartalom minősége szempontjából osztottam fel, ugyanis az egyik általam használt módszer csak fehérjetartalmat határoz meg, míg a hozzáadott aminosav tartalmat, vagy egyéb nem fehérje eredetű nitrogéntartalmú komponenst figyelmen kívül hagyja. A vizsgált fehérjekészítményeket a 6. táblázat foglalja magában, mely alapján 4 kategóriába osztottam a termékeket. A zsírtartalom feltüntetésének oka a Biuret-próbához kötődik, mivel a mintákban levő zsíradék növelte azok háttérének abszorbanciáját.

Kiemelendő, hogy a *Scitec Nutrition* által gyártott, és forgalmazott termékek csomagolásán ún. „Batch Number” szerepel, mely segítségével interneten könnyedén utánakereshetünk a gyártó által mért fehérjekészítmények fehérjetartalmára. Egyedülállónak tekinthető ez, mivel egyik gyártó sem vállalja fel az említetten kívül a termékeinek eredetiségét, megfelelőségét fehérjekoncentráció szempontjából. A módszer nagy előnye, hogy a vásárlói bizalmat ezzel kívánják megnyerni, illetve meg is tartani. Ennek is köszönhetően vált a gyártó Európában vezetővé ezen termékek eladását illetően [I10].

Az előre lemerített fehérjekoncentrációk nagy segítséget nyújtottak a módszerek használhatóságának fejlesztésében.

6. táblázat
Az általam vizsgált fehérjekészítmények

Csak tejsavófehérjét tartalmazó minták				
Termék neve	Íz	Darabszám	Elméleti fehérjetartalom (m/m %)	Zsírtartalom (m/m %)
Dymatize Elite Whey Protein Isolate	csokoládé	1	77,4	5
Dymatize Elite Whey Protein Isolate	vanília	1	77,4	5
VPX Supplements Syngex	vanília	1	78,4	6
Scitec Nutrition 100% Whey Protein Professional	epres- fehércsokoládé	2	73,3	5
Scitec Nutrition 100% Whey Protein Professional	csokoládé- mogyoró	3	73,3	5
Scitec Nutrition 100% Whey Protein Professional	kókuszos csokoládé	2	73,3	5
Scitec Nutrition 100% Whey Protein Professional	vanília-erdei	2	73,3	5
Scitec Nutrition 100% Whey Protein Professional	banán	2	73,3	5
SAN Nutrition 100% Pure Platinum Whey	vanília	1	76,7	5
Nutrend Whey Core 100	málna	1	76,4	5
Nutrend Whey Core 100	csokoládé	1	76,4	5
Nutrend Whey Core 100	vanília	1	76,4	5
Nutrend Whey Core 100	jegeskávé	1	76,4	5
Multipower Whey Protein Iso Complex	csokoládé	2	75	3,6

Tejsavófehérjét, és hozzáadott aminosavakat tartalmazó fehérjék

Termék neve	Íz	Darabszám	Elméleti fehérjetartalom (m/m %)	Zsírtartalom (m/m %)
Strength Nutrition Protein 80	vanília	1	73,9	7
Biotech USA Brutal Nutrition Muscle On	áfonyás-joghurt	2	73	7
Biotech USA Brutal Nutrition Muscle On	vanília	2	73	7
BioTech USA Nitro Pure Whey Gold	banán	2	73,9	7
BioTech USA Nitro Pure Whey Gold	meggyes-joghurtkrém	2	73,9	7
BioTech USA Nitro Pure Whey Gold	éticsokoládé	2	73,9	7
BioTech USA Nitro Pure Whey Gold	kókuszos-csokoládé	2	73,9	7
BioTech USA Nitro Pure Whey Gold	karamell-cappucino	2	73,9	7
BioTech USA Nitro Pure Whey Gold	epres-vaníliakrém	2	73,9	7
BioTech USA Ultra Loss Shake	mogyorókrém	2	50,2	7
BioTech USA Ultra Loss Shake	eper-vanília	2	50,2	7
BioTech USA Ultra Loss Shake	citrom-joghurt	2	50,2	7
BioTech USA Ultra Loss Shake	meggy-joghurt	2	50,2	7
BioTech USA Ultra Loss Shake	éticsokoládé	2	50,2	7
Scitec Nutrition Jumbo Professional	málna	1	32	4
Scitec Nutrition Jumbo!	csokoládé	1	22,7	3

Egyéb, növényi+állati, vagy tejsavó+egyéb állati fehérjék					
Termék neve	Íz	Darabszám	Elméleti fehérjetartalom (m/m %)	Zsírtartalom (m/m %)	Fehérjék a termékben
BSN Syntha-6	csokoládé	2	50	14	Tejsavófehérje koncentrátum és izolátum Ca-kazeinát α -, és β -kazeinát tejfehérje izolátum tojás albumin glutamin peptidek
Trec Nutrition Whey Creamy Cocktail	csokoládé	1	68	5	Tejsavófehérje koncentrátum, tejfehérje koncentrátum, Ca-kazeinát
Trec Nutrition Whey Creamy Cocktail	eper	1	68	5	Tejsavófehérje koncentrátum, tejfehérje koncentrátum, Ca-kazeinát
Trec Nutrition Whey Creamy Cocktail	eper-csokoládé	1	68	5	Tejsavófehérje koncentrátum, tejfehérje koncentrátum, Ca-kazeinát
PowerTrack Power Protein	fahéj	1	77	4	Szójafehérje izolátum, tejsavófehérje izolátum, Ca-kazeinát
PowerTrack Power Protein	vanília	1	77	4	Szójafehérje izolátum, tejsavófehérje izolátum, Ca-kazeinát
PowerTrack Power Protein	banán	1	77	4	Szójafehérje izolátum, tejsavófehérje izolátum, Ca-kazeinát

Egyéb, növényi + állati, vagy tejsavó + egyéb állati fehérjék, illetve hozzáadott aminosavakat IS tartalmazó fehérjék					
Termék neve	Íz	Darabszám	Elméleti fehérjetartalom (m/m %)	Zsírtartalom (m/m %)	Fehérjék a termékben
Multipower Professional All-In-One Xplode Muscle Growth	csokoládé	2	55	3	Tejsavófehérje-koncentrátum és izolátum, Ca-kazeinát, tejfehérje-koncentrátum, szójafehérje-izolátum, szárított tojás-albumin
MuscleMeds Carnivor Mass	csokoládé	2	27	1	Hidrolizált marhafehérje-izolátum, BCAA

3.2 Biuret-próba

A két, vagy több peptidkötéssel rendelkező molekulák alkalikus körülmények között reagálnak Cu^{2+} ionnal, és lila komplex keletkezik. A koordináció a peptidkötések nitrogénje és a rézion között jön létre. A reakció azon alapszik, hogy lúgos közegben a peptidkötés $-\text{CONH}-$ csoportjai $-\text{COH} = \text{N}-$ csoporttá rendeződnek át (oxo-enol átalakulás). A keletkező $(-\text{OH})$ -csoport hidrogénjei disszociálnak, helyükre kötnek be a Cu^{2+} -ionok, amelyek a nitrogének nemkötő elektronpárjaival is kötéseket alakítanak ki. A keletkezett komplex mennyisége arányos a peptidkötések számával. A gyakorlatban a fehérjemennyiség meghatározását kalibrációs görbe alapján végezzük, amelyet ismert mennyiségű fehérje segítségével készítünk. A biuret reagenssel kezelt fehérjét a színes termék kialakulása után fotometráljuk 540 nm-en. Előnye, hogy csak néhány anyag zavarja (pl. Trisz és aminosav pufferek), gyorsan elvégezhető, nem érzékeny a mérendő fehérjék aminosavösszetételére. Hátránya: kicsi az érzékenysége, a méréshez legalább 1 mg fehérje szükséges [I11]. A módszer előnye, és egyben hátránya, hogy 2 peptid kötés felett mutat csupán elszíneződést, így egyéb N tartalmú komponensek, mint a melamin, vagy szabad aminosavak kiszűrhetők.

A módszer menete a következők szerint zajlott:

3.2.1 Mintaelőkészítés:

- 0,05 g minta bemérése kémcsövekbe 4 pontos analitikai mérleggel 3 ismételtesben (Mérleg típusa: Pioneer PA214CM)

- 10 ml desztillált víz mérése a bemért mintákra

- A mintákat homogenizálás után 24 órán át állni hagyjuk a megfelelő kioldódás miatt

- 24 óra eltelte után a mintákat 20 percig $26\text{ }^{\circ}\text{C}$ -on 6000 1/min fordulatszámon centrifugáljuk, a zsírfázis szétválasztása céljából, (Ultracentrifuga típusa: Sigma 3K30) valamint a centrifugálásnak kioldódást erősítő hatása is van.

- A centrifugált mintákból 1 ml-t pipetázunk, amihez 2 ml előzetesen elkészített Biuret-reagenst adunk, továbbá 2 ml desztillált vizet.

- A minták háttér-abszorbanciájának meghatározásához 1 ml előkészített mintához 4 ml desztillált vizet adunk. A háttér abszorbanciák lemerésére azért volt szükséges, mert a centrifugálás (és hígítás) ellenére bár minimális mennyiségű, de a fotometriás mérést zavaró,

fényszórást okozó szuszpendált részecskék maradtak az oldatban. A fényszórás okozta abszorbancia növekedéssel a Biuret-reagenssel készült oldatok abszorbancia értékeit korrigáltam.

- Magas zsírtartalmú minták esetén (pl. BSN Syntha-6) előzetes zsírtalanításra volt szükség, mely során hexánnal mostam át a mintát szűrőpapír segítségével, egészen addig, míg a szűrlet jól láthatóan zsírmentessé vált. A szükséges mintamennyiséget ebből a tisztított termékéből mértem ki. A kioldott zsírmennyiséggel később az eredmények és értékelésük pontban korrigáltam.

3.2.2 Biuret-reagens összetétele:

- KI: 30 mmol/l
- K-Na-tartarát: 100 mmol/l
- CuSO₄: 30 mmol/l
- NaOH: 3,8 mol/l [I12]

3.3.3 Mérés menete:

A Biuret-reagens hozzáadásától számítva 30 perc inkubálási idő leteltével, spektrofotométerrel **540 nm**-en határozzuk meg a minták abszorbanciáját. Az előzetesen meghatározott standard-sor által adott egyenes egyenletével számítjuk ki a minták fehérje-koncentrációját. A standard-sor összetételéről a 7. táblázat nyújt átfogó képet. A méréshez használt spektrofotométer típusa: Thermo Scientific Evolution 300.

A méréshez használt képlet a következő volt:

$$F\% = [(A-A_h) - 0,1211919] / 0,05974378] / m$$

ahol:

F%: fehérje százalékos aránya

A: a minta abszorbanciája 570 nm-en

A_h: a minta háttérének (Biuret-reagens hozzáadása nélküli) abszorbanciája

m: a minta kimért tömege

7. táblázat
Standard-sor összetétele ml-ben kifejezve

Sorszám	BSA (Marha-szérum- albumin) 50 mg/L	Biuret-reagens	Desztillált víz	Összesen
1.	0	2	3	5
2.	0,2	2	2,8	5
3.	0,4	2	2,6	5
4.	0,8	2	2,2	5
5.	1,6	2	1,4	5
6.	2,0	2	1,0	5

3.3 Nessler-módszer

A **Nessler-reagensből** (kálium-[tetra-jodo-merkurát(II)] lúgos oldata) ammónia hatására higany(II)-oxid-ammónium-jodid keletkezik, amely kevés ammónia jelenlétében sárga, többnél narancsszínű színeződés, sok ammónia jelenlétében pedig barnásvörös csapadék.

A Kjeldahl-roncsolással kapott kénsavas oldatot a „nesslerizálás” előtt hígítani és semlegesíteni kell. A **Nessler-módszer** használata különösen akkor **előnyös, ha a meghatározandó nitrogén mennyisége 10–100 µg között található**. A módszer hátránya, hogy a Nessler-reagens hosszabb ideig nem tárolható, a színreakció intenzitása pedig függ a reakció idejétől, a reagens mennyiségétől, a reakcióelegy hőmérsékletétől, az oldatban lévő ionok minőségétől és koncentrációjától, valamint az oldat pH-jától. A minta fényelnyelését ezért mindig azonos kísérleti körülmények között, a méréssel egyidejűleg felvett standard alapján kell meghatározni. A színes oldat fényabszorpciójának maximuma 400–500 nm közé esik. A különböző módszerek a mérést 430–450 nm közötti hullámhosszon javasolják.

Johnson az alábbi módszert javasolja 10–40 µg nitrogént tartalmazó anyag nitrogéntartalmának meghatározására. 18x150 mm-es Pyrex kémcsőbe bemérjük a 10–40 µg nitrogént tartalmazó anyagot vagy oldatot, és 10 cm³ 2 M H₂SO₄-at adunk hozzá, ami literenként 0,2 g CuSeO₃-et tartalmaz. A kémcsőre üvegfedőt teszünk, és egy éjszakán keresztül homokfürdőn vagy alumíniumtömbben, 100–115 °C-on roncsoljuk.

A réz-szenit helyett használható CuSO₄ és nátrium-szenit ekvivalens keveréke is. A roncsolás befejezése után a lehűtött oldathoz 2 cm³ vizet, 2 cm³ Nessler-reagenst, majd 3 cm³ 2 M nátrium-hidroxidot adunk, 5 perc állás után az oldatot küvettába öntjük, és 490 nm hullámhosszúságon mérjük a fényelnyelést.

Az eljárás során használt Nessler-reagens stabilis, mivel a lúgot csak a reakció közben adjuk a vizsgálati anyaghoz. A Nessler-reagenst a következőképpen készítik: 4 g KI-ot és 4 g HgI₂-ot feloldanak 25 cm³ vízben, majd hozzáadnak 750 cm³ vízben feloldott 1,75 g gumiarábikumot, 1 dm³-re feltöltik, majd nitrogénmentes szűrőpapíron szűrik [I13].

A fenti eljárást a következő módosítások mellett alkalmaztam:

Az eljárás során a roncsolóoldat 50% H_2SO_4 volt, amihez katalizátorként 0,7508 g CuSO_4 -t, és 0,7909 g $\text{Na}_2\text{O}_3\text{Se}$ -t tettem (1000 ml oldathoz). Az oldatból 2 cm^3 -t kimérve az előzetesen kimért 0,05 g tömegű mintákra 5 órán keresztül roncsoltam őket $380\text{ }^\circ\text{C}$ -on. Az eljárást 3 ismételtsben végeztem. A használt melegítőegység típusa: Labor Min OE-718/A elektromos blokkroncsoló.

Roncsolás után a mintákból összeségében 15.000-szeres hígítást készítettem, mely során először 50 ml-re hígítottam a közvetlenül roncsolt mintákat, majd hígítás, és keverés után 0,2 ml mennyiségeket pipettáztam műanyag kémcsövekbe. Ehhez 2,8 ml desztillált víz, 3 ml 2 M NaOH, és 2 ml Nessler-reagens került. A minták abszorbanciáját 5 perc állás után spektrofotométerrel (típusa: Thermo Scientific Evolution 300) mértem 490 nm-en. A kalibrációs oldat $1,665\text{ g N/l}$ oldat ($(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ -ból) százszoros hígításából készítettem, melynek pontos összetételét a 8. táblázat ábrázolja.

A fehérje koncentrációjának kiszámításához az alábbi képletet használtam:

$$F \% = [(A - 0,083234) / 0,02216] / 200000 \cdot m \cdot 5000 \cdot 6,25$$

ahol:

F %: a fehérje százalékos aránya

A: a spektrofotométerrel mért abszorbancia

m: a kimért minta tömege

6,25: szorzószám a fehérjetartalom visszaszámolásához (savófehérjék esetén 6,38; szója fehérjék esetén 5,91 volt ez a szám)

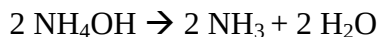
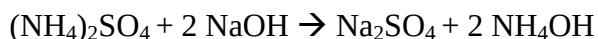
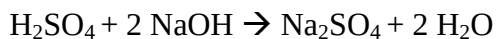
8. táblázat
Nessler-módszerhez használt standard-sor összetétele ml-ben kifejezve

Sorszám	Ammónium-szulfát oldat	Nessler-reagens	NaOH	Desztillált víz	Összesen
1.	0	2	3	3	8
2.	0,3	2	3	2,7	8
3.	0,6	2	3	2,4	8
4.	1,2	2	3	1,8	8
5.	1,8	2	3	1,2	8
6.	2,4	2	3	0,6	8
7.	3.0	2	3	0	8

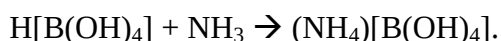
3.4 Kjeldahl-módszer

A Kjeldahl-módszer, vagy más néven Kjeldahl-roncsolás egy analitikai kémiai módszer nitrogén koncentráció meghatározásához, melynek alapjait Johan Kjeldahl fedezte fel 1883-ban [I14].

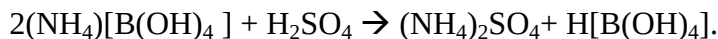
Azok a nem illékony szerves nitrogénvegyületek, amelyekben a nitrogén szénhez vagy hidrogénhez kapcsolódik (pl. aminok, aminosavak, fehérjék, alkaloidák stb.) tömény kénsavoldatban forráspontemelő (pl. kálium-szulfát) és reakciósebességet gyorsító(pl. réz(II)-sók, szelén, higany stb. katalizátor adalékanyagok) jelenlétében úgy roncsolhatók el, hogy roncsolás közben a nitrogén vagy ammónia alakjában lehasad, vagy a kénsavból keletkező kén-dioxid hatására ammóniává redukálódik és a kénsav feleslegével nem illékony ammónium-hidrogén-szulfáttá alakul. A felhígított kénsavas ammónium-szulfát oldatot tömény nátrium-hidroxid oldattal semlegesítjük, majd meglúgosítjuk [I15]. Az erős bázis az ammónium-szulfátból mennyiségileg kiszorítja az ammóniát, amely forralással az oldatból eltávolítható:



Alkalmas desztillálókészülékben forralva a lúgos oldatot, az eltávozó ammónia mennyiségileg megköthető ismert térfogatú, és töménységű bórsavoldatban:



A desztilláció befejezése után a bórsav feleslegét kénsav-mérőoldattal megtitráljuk:



A módszer menete során nitrogénmentes szűrőpapírra 0,1 g tömegű mintákat mértem ki, és roncsoltam el 14 cm³ cc. (96 %) kénsavval, és 2 tablettát Kjeldahl-roncsolásokhoz használandó katalizátorral 400-420 °C-on 2 és fél órán keresztül 2 ismétlésben. A melegítőegység típusa: Tecator Digestion System 20 1015 Digester. A mérendő fehérjeporok mellett 2 vakmintát is roncsoltam minden alkalommal.

Desztillálás során Tecator Kjelttech System 1026 Distilling Unit típusú automata desztilláló egységgel dolgoztam, a használt NaOH koncentrációja 33 m/m % volt. A bórsavoldat koncentrációja 4 % volt, melynek készítése során 200 g bórsavat mértem 3 liter felforralt desztillált vízbe, amit 4,5 literre egészítettem ki. Indikátoroldatok készítése során 50 mg brómkrezolzöld indikátort adtam 50 ml etil-alkoholhoz, és 50 mg metilvörös indikátort újabb 50 ml etil-alkoholhoz. A brómkrezolzöld oldat 50 ml-ét, a metilvörös indikátor 35 ml-ét adtam a bórsavoldathoz, amit végül kiegészítettem 5 literre.

A desztillálás után a megjelenő élénkzöld színű oldatot 0,2 M előzetesen meghatározott koncentrációjú kénsavoldattal titráltam meg automata buretta segítségével. Az automata buretta típusa: Tecator Jencons Digitrate 50 ml. Titrálás során az élénkzöld szín előbb szürke átcsapási tartományt ért el, majd ezt élénkrózsaszín színig titráltam. A fogyott kénsav segítségével kiszámolható volt a fehérje koncentrációja.

A fehérjeszorzó megválasztása függött a minták összetételétől. Csak tejsavófehérjét tartalmazó minták esetében 6,38-al, nagyrészt szójafehérjét tartalmazó minták esetében 5,91-el, egyéb kevert fehérjék esetén 6,25-el szoroztam meg a nitrogén koncentrációját. A fehérjekoncentráció kiszámolásához használt képlet a következő volt:

$$F\% = V * f * 1,401 * 0,2 * 6,25 / m$$

ahol:

F%: a fehérje részaránya 100 g termékre vonatkozóan

V: a fogyott kénsavoldat mennyisége

f: a kénsavoldat pontos koncentrációja

m: a bemért minták pontos tömege.

4. Eredmények és értékelésük

Eredményeimet a használt módszerek szerint osztottam fel, és igyekeztem egyetlen táblázatban feltüntetni az összes eredményem. A módszerek pontosságáról az 1, 2, 3, és 4. diagram ad számunkra magyarázatot.

4.1 A Biuret-próba eredményei

A módszer eredményeit a 9. táblázat foglalja össze. A spektrofotometriás mérés során a minták háttérének abszorbanciáját a zsírtartalom szemléltetése miatt adtam meg. A hátterek abszorbanciái 0,020 és 0,080 között helyezkednek el 2 kivétellel. A *VPX Syngex*, illetve a *BSN Syntha-6* közül az utóbbi 14 %-os zsírtartalma, melyet a 6. táblázatban foglaltam össze adhat okot a magas háttér abszorbanciára, míg az előbbi termék 6 %-os zsírtartalma már nem. A *VPX Syngex* termékkel kapcsolatban több ellenvetés is született, melyet a 4.4 pontban említék meg.

Fontos megjegyezni, hogy azon termékek, melyek hozzáadott aminosavakat (*Strength Nutrition Protein 80*, *Biotech USA Brutal Nutrition Muscle On*, *BioTech USA Nitro Pure Whey Gold*, *BioTech USA Ultra Loss Shake*, *Multipower Professional All-In-One*, *Xplode Muscle Growth*, *MuscleMeds Carnivor Mass*, összesen 31 darab minta), egyéb nem fehérje eredetű nitrogéntartalmú anyagokat (L-karnitin, kreatin) tartalmaztak, azokat a komponenseket a módszer figyelmen kívül hagyta, ezért is volt tapasztalható az elméleti fehérjetartalomtól való nagyfokú elmaradás.

A Biuret-módszer használatának további akadálya volt, hogy a nem vízzoldható fehérjék (pl. növényi, így szója fehérje) a mintaelőkészítés speciális volta miatt nem kerültek mérésre. A kimaradt minták mindegyike a *Power Track Power Protein* nevet viselte, összesen 3 darab minta.

A megmaradt 28 mintánál, melynél a módszer során közvetlenül az elméleti koncentráció kapható vissza, a módszer által mért eredmények pontossága átlaga pontosan 100 %-ra tehető, a szórása pedig 5,16 %. Ennek alapján a Biuret-módszer megbízható eredményeket produkált méréseim során.

9. táblázat
Az összes módszer eredménye

Termék neve	Íz	Biuret- próba által kapott hátér A	Biuret- próba által kapott átlagos fehérje- koncentráció (%)	Nessler- módszer által kapott átlagos fehérje koncentráció (%)	Kjeldahl-módszer által kapott átlagos fehérjekoncentráció (%)	Elméleti fehérjetartalom (%)
Scitec Nutrition100% Whey Protein Professional	csokoládé- kókusz	0,049	76,4 ± 0,96	72,7 ± 1,34	73,2 ± 0,13	73,3
Scitec Nutrition100% Whey Protein Professional	vanília-erdei gyümölcs	0,054	77,0 ± 3,04	69,2 ± 3,38	72,6 ± 0,42	73,3
Scitec Nutrition100% Whey Protein Professional	banán	0,064	73,1 ± 2,38	71,3 ± 1,54	72,8 ± 0,17	73,3
Scitec Nutrition100% Whey Protein Professional	csokoládé- mogyoró	0,054	73,4 ± 2,41	72,7 ± 2,82	72,5 ± 0,13	73,3
Scitec Nutrition100% Whey Protein Professional	eper	0,055	74,6 ± 1,52	66,9 ± 1,13	72,8 ± 0,08	73,3
Multipower All-in-one explode Muscle Growth	csokoládé	0,033	43,0 ± 0,67	52,6 ± 0,40	52,7 ± 0,62	55
Nutrend Whey Core 100	vanília	0,046	75,9 ± 0,27	77,6 ± 2,32	76,3 ± 3,03	76,4
Nutrend Whey Core 100	kávé	0,045	75,9 ± 5,74	75,7 ± 3,20	73,5 ± 0,76	76,4
Nutrend Whey Core 100	csokoládé	0,052	74,2 ± 0,89	75,3 ± 4,16	72,9 ± 0,07	76,4
Nutrend Whey Core 100	málna	0,051	76,1 ± 2,30	75,6 ± 0,57	74,0 ± 1,08	76,4
Biotech USA Nitro Pure Whey Gold	banán	0,069	35,0 ± 0,83	73,2 ± 1,19	73,3 ± 0,87	73,9
Biotech USA Nitro Pure Whey Gold	meggy- joghurt	0,082	38,3 ± 2,53	77,0 ± 1,75	75,8 ± 0,13	73,9
Biotech USA Nitro Pure Whey Gold	étcsokoládé	0,062	45,2 ± 2,13	74,8 ± 0,28	71,8 ± 0,59	73,9

9. táblázat (folytatás)
Az összes módszer eredménye

Biotech USA Nitro Pure Whey Gold	csokoládé-kókusz	0,043	41,6 ± 1,25	72,1 ± 1,31	74,7 ± 0,39	73,9
Biotech USA Nitro Pure Whey Gold	karamell-cappuccino	0,056	41,4 ± 1,03	76,5 ± 1,52	75,8 ± 0,13	73,9
Biotech USA Nitro Pure Whey Gold	eper-vanília	0,064	39,8 ± 1,10	73,3 ± 2,62	73,3 ± 0,12	73,9
Biotech USA Ultra Loss Shake	citrom-joghurt	0,058	33,1 ± 1,08	49,8 ± 1,82	49,3 ± 0,56	50,2
Biotech USA Ultra Loss Shake	meggy-joghurt	0,036	33,0 ± 0,51	46,1 ± 1,25	49,1 ± 0,33	50,2
Biotech USA Ultra Loss Shake	éticsokoládé	0,080	37,1 ± 0,17	48,7 ± 0,18	52,1 ± 0,36	50,2
Biotech USA Ultra Loss Shake	eper-vanília	0,043	28,1 ± 0,25	48,3 ± 0,12	48,8 ± 0,29	50,2
Biotech USA Ultra Loss Shake	mogyorókrém	0,068	34,0 ± 1,54	52,4 ± 1,33	50,1 ± 0,44	50,2
Biotech USA Brutal Muscle On	áfonya-joghurt	0,078	64,6 ± 4,45	73,6 ± 1,27	73,3 ± 1,56	73
Biotech USA Brutal Muscle On	vanília	0,070	64,5 ± 0,77	81,0 ± 2,34	75,7 ± 2,82	73
Dymatize Nutrition Elite Whey Protein Isolate	vanília	0,086	78,2 ± 2,33	76,7 ± 2,48	73,4 ± 0,55	77,4
Dymatize Nutrition Elite Whey Protein Isolate	csokoládé	0,061	74,2 ± 2,00	77,2 ± 0,38	71,0 ± 0,75	77,4
MuscleMeds Carnivor Mass	csokoládé	0,033	24,4 ± 0,41	23,4 ± 0,60	29,6 ± 0,26	27
VPX Supplements Syngex	vanília	0,132	34,4 ± 1,71	79,1 ± 7,54	75,2 ± 0,74	78,4
Strength Nutrition Protein 80	vanília	0,050	59,8 ± 1,50	57,9 ± 3,03	58,6 ± 0,22	73,9
SAN Nutrition 100% Pure Platinum Whey	vanília	0,053	70,2 ± 1,56	75,7 ± 2,63	73,3 ± 0,65	76,7

9. táblázat (folytatás)
Az összes módszer eredménye

Trec Nutrition Whey Creamy Cocktail	csokoládé	0,079	64,3 ± 2,84	67,1 ± 0,76	63,7 ± 1,79	68
Trec Nutrition Whey Creamy Cocktail	eper	0,071	69,1 ± 4,83	64,2 ± 2,43	65,7 ± 0,15	68
Trec Nutrition Whey Creamy Cocktail	csokoládé- eper	0,047	67,9 ± 0,40	61,9 ± 1,97	63,9 ± 0,19	68
Multipower Whey Protein Iso Complex	csokoládé	0,023	79,8 ± 0,95	71,0 ± 0,00	74,0 ± 0,49	75
Scitec Nutrition Jumbo Professional	málna	0,029	31,6 ± 1,88	33,6 ± 1,38	40,7 ± 0,21	32
Scitec Nutrition Jumbo	csokoládé	0,029	22,8 ± 1,38	19,9 ± 0,81	28,8 ± 0,82	22,7
BSN Synth-6	csokoládé	0,223	51,4 ± 0,26	41,9 ± 0,82	47,4 ± 0,65	50
Power Track Power Protein	fahéj	-	-	76,0 ± 0,08	80,7 ± 0,81	80
Power Track Power Protein	vanília	-	-	80,0 ± 3,32	81,2 ± 0,89	80
Power Track Power Protein	banán	-	-	80,4 ± 3,70	80,9 ± 0,53	80

4.2 A Nessler-módszer eredményei

Az alkalmazott módszer eredményeit a 9. táblázat szemlélteti. Az általam mért eredmények, és a csomagoláson feltüntetett értékek közötti pontosság átlaga 97,4 %, szórása 6,77 %, ami 6,95 %-os relatív standard devianciát vont maga után.

4.3 A Kjeldahl-módszer eredményei

A módszer eredményeit a 9. táblázat ismerteti. Az általam mért eredmények, és a csomagoláson feltüntetett értékek közötti pontosság átlaga 99,7 %, aminek szórása 6,53 %, ami 6,55 % variációs koefficiens-t von maga után. A *Scitec Nutrition Jumbo*, és *Jumbo Professional* termékek közel 126 %-os pontossága annak tudható be, hogy a termék zablisztet is tartalmazott, miközben azt a felhasznált fehérje készítmény mennyisége alapján adták meg..

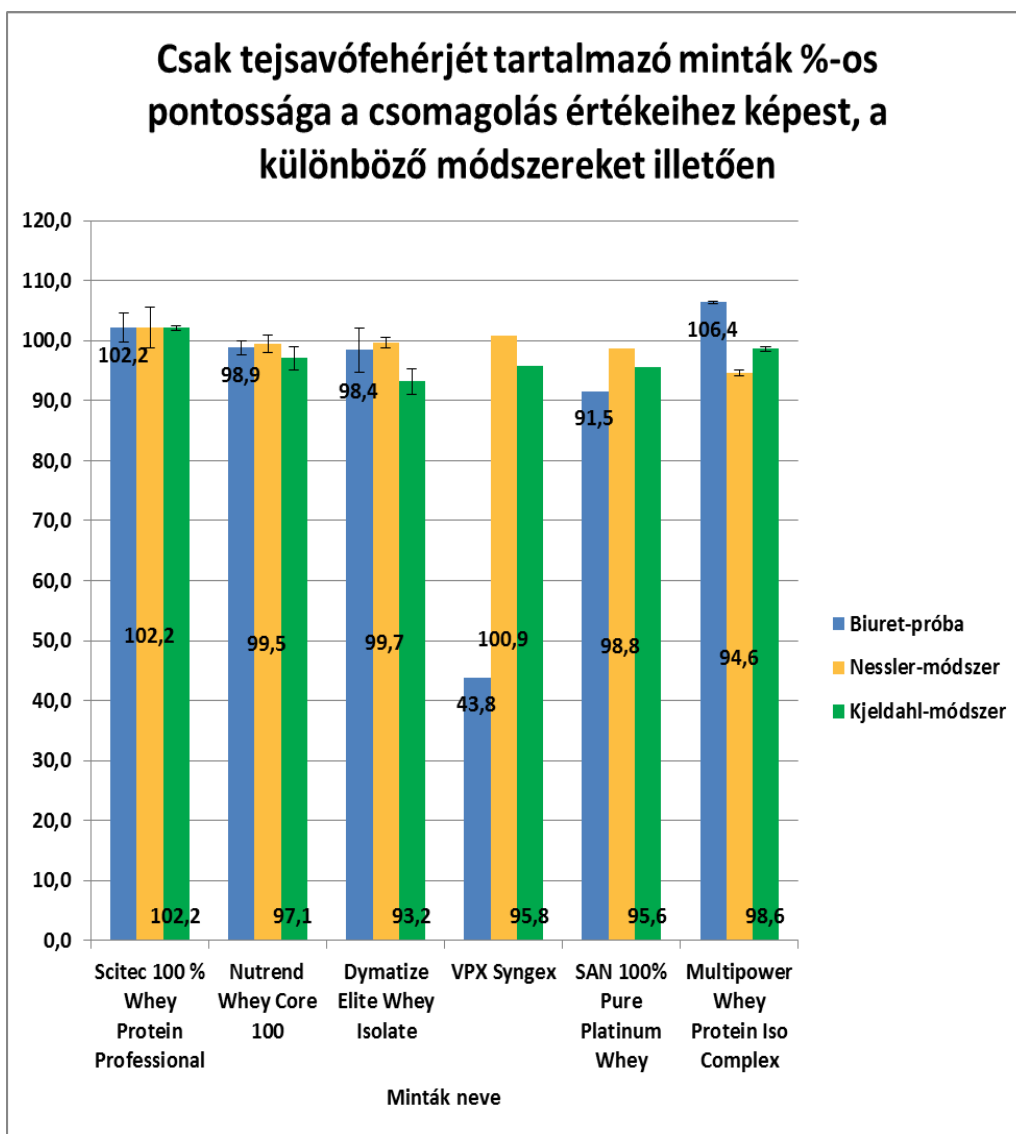
4.4 A módszerek eredményeinek összehasonlítása

Mivel dolgozatom egyik célkitűzése volt a használt módszerek összehasonlítása, így ebben a pontban erről kívánnék beszélni. Minden alkalommal a standard-nek tekintendő Kjeldahl-módszert vettem összehasonlítási alapul, mivel ezt a módszert alkalmazzák ma is fehérjekoncentráció meghatározásra akkreditált laboratóriumokban.

A minták közül a 62-ből 2 esetet leszámítva mindegyik megfelelő, vagy közel megfelelő eredményt produkált a csomagolásán feltüntetett értékhez képest. Az eltérő fehérjekoncentrációt mutató minták a *VPX Syngex*, illetve a *Strength Nutrition Protein 80*. Előbbi esetében furcsa, hogy csomagolásán egyáltalán nem írt hozzáadott aminosav tartalmat, tehát a 6. táblázatban is az első kategóriába volt sorolható, mégis a Biuret-próba mérése során a termék fehérjetartalma 43,8 % -a a csomagoláson jelöltnek, amivel ellentétben a Kjeldahl-módszer során 95,8 % pontosságot határoztam meg (1. diagram). Internetes vélemények alapján a termékre sokan panaszkodtak, hasi görcsökről, puffadásról, hasmenésről számoltak be [116]. Az eltérés oka egyelőre nem tisztázott. A második termék, a *Strength Nutrition Protein 80* esetében bár jelölték, hogy hozzáadott aminosavakat tartalmaz, ennek ellenére mindhárom módszer során átlagosan $58,78 \pm 1,00$ % fehérjetartalmat határoztam meg, ami átlagosan $79,5 \pm 1,35$ % azonosságú a csomagoláson feltüntetettel szemben (2. diagram).

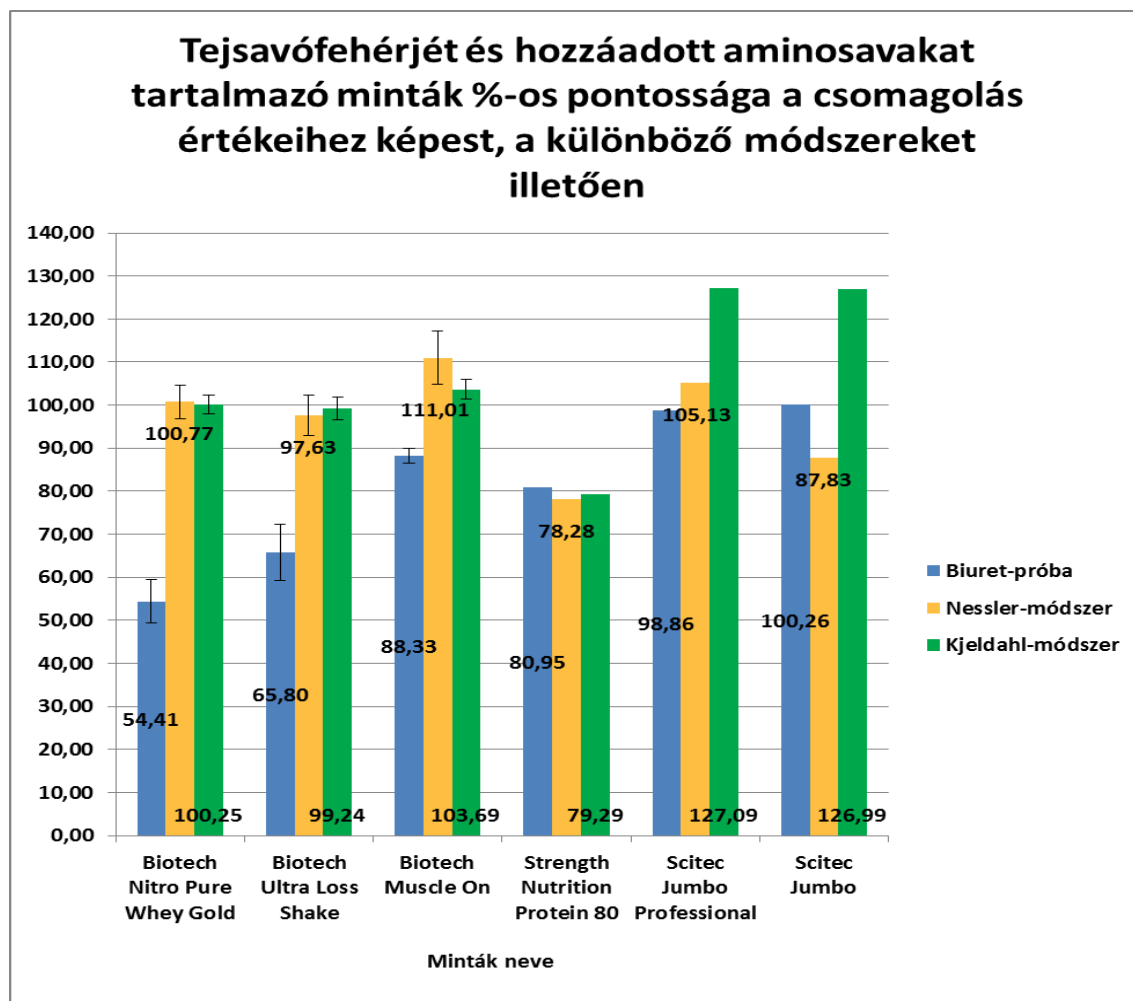
Az általam alkalmazott 3 módszer közül maga nemében a Biuret-próba tekinthető a legpontosabbnak, ha nem vesszük figyelembe a módszer során nem mérhető komponenst tartalmazó mintákat is. **A Biuret-próba, és a Kjeldahl-módszer között észrevehető, hogy ha az előbbi módszerrel nem mérhető 33 mintát, és a fentebb említett 2 problémás esetet figyelmen kívül hagyom, a maradék 27 minta eredményei alapján elmondható, hogy az esetek 77,8 %-ban (27 esetből 21-szer) a Biuret-próba eredményeinek pontossága átlagosan $4,41 \pm 2,60$ %-kal nagyobb.**

A Nessler-módszer mivel nagyon kis mennyiségű nitrogént képes megbízhatóan mérni, és a magas fehérjetartalmú kiegészítőket tizenötezerszeres hígítással lehetett ennek megfelelően meghatározni, emiatt körülményes volt a módszer használata. Az eredmények alapján nem szűrhető le semmilyen kapcsolat a két másik módszerrel, mivel az eredmények véletlenszerűen magasabb, vagy alacsonyabb értékeket produkáltak, közel 50 %-os előfordulással. Az eredmények pontosságának összehasonlításait az 1, 2, 3, és 4. diagram szemlélteti. A diagramokon a 100 % értékhez való közelség jelzi a mérés eredményességét.



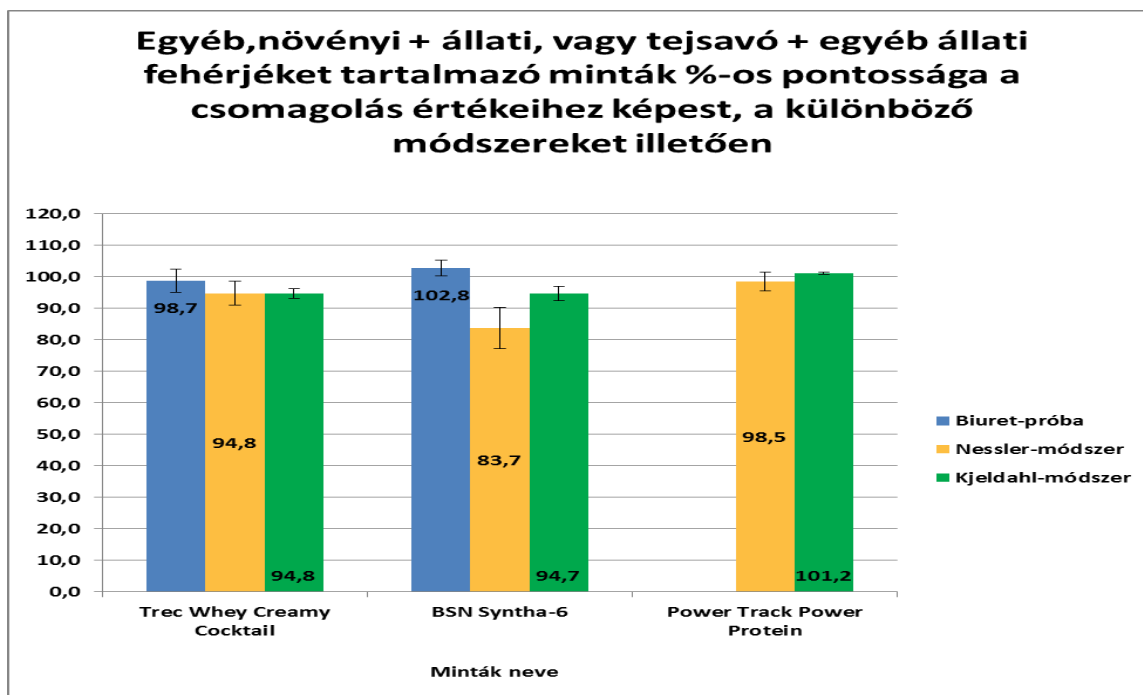
1. diagram

Csak tejsavófehérjét tartalmazó minták %-os egyezősége mért fehérjetartalom és a csomagolás értékeihez képest, a különböző módszereket illetően



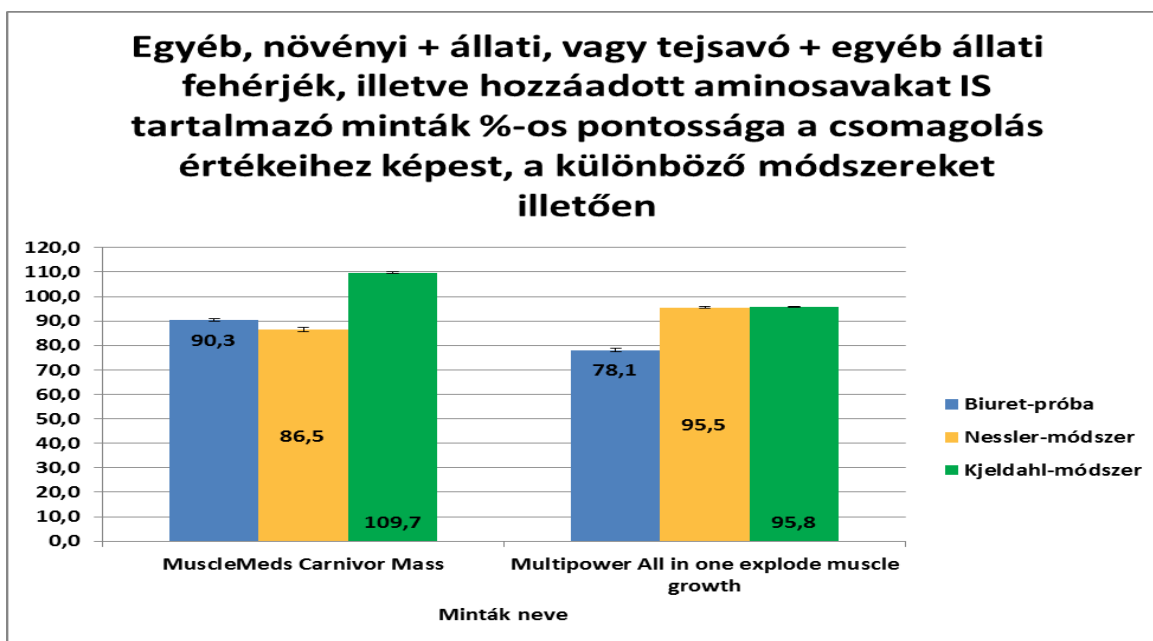
2. diagram

Tejsavófehérjét és hozzáadott aminosavakat tartalmazó minták %-os egyezősége mért fehérjetartalom és a csomagolás értékeihez képest, a különböző módszereket illetően



3. diagram

Egyéb, növényi + állati, vagy tejsavó + egyéb állati fehérjéket tartalmazó minták %-os egyezősége a csomagolás értékeihez képest, a különböző módszereket illetően



4. diagram

Egyéb, növényi + állati, vagy tejsavó + egyéb állati fehérjék, illetve hozzáadott aminosavakat is tartalmazó minták %-os pontossága a csomagolás értékeihez képest, a különböző módszereket illetően

5. Következtetések és javaslatok

Következtetésként leszűrhető, hogy ezen termékek majdhogynem mindegyike megfelelő élelmiszerbiztonság, fogyaszthatóság szempontjából. A 62 mintából 2 darab az, mely nem produkált közel azonos fehérjekoncentrációt, mint amit a csomagolásukon tüntettek fel. Az általam használt Biuret-módszer pedig alkalmas lehetne olyan nem fehérje-eredetű nitrogéntartalmú anyagok kiszűrésére is, mint például a melamin, és teljes bizonyossággal állíthatom, hogy az általam vizsgált termékek valóban a feltüntetett komponenseket tartalmazzák, és nem károsak az egészségre.

A módszerek összehasonlítása során bizonyossá vált, hogy a Biuret-próba eredményei azon eseteket leszámítva, melynél a módszer nem tud minden nitrogén tartalmú komponens koncentrációját meghatározni, átlagosan 100 % pontossággal, és kisebb szórással működött, mint a Kjeldahl-módszer. A kapott értékek az esetek többségében átlagosan $4,41 \pm 2,60$ %-kal voltak nagyobbak. Ennek alapján a Biuret-módszer kis vegyszerigénye, könnyű használhatósága miatt kiváló alternatíva lehet valódi fehérjetartalom meghatározásra akár ilyen feladattal is foglalkozó laboroknak, cégeknek.

A Nessler-módszer körülményes volta -, és nagy higításigénye miatt magas fehérjetartalmú különleges táplálkozási célú élelmiszerek fehérjetartalmának meghatározására csak indokolt esetben alkalmas, például anyagi okok miatt, mivel a módszer a Kjeldahlhoz képest sokkal kevesebb vegyszert igényel, ez által olcsóbb.

Elmondható, hogy bár az esetek 97 %-ban (62-ből 60-szor) pozitív eredményeket tapasztaltam a vizsgált termékekkel kapcsolatban, fontos megjegyezni, hogy aki ilyen fajta étrendkiegészítőket kíván vásárolni, mindenképp ellenőrzött, piacvezető gyártót/forgalmazót válasszon. Ennek oka, hogy a vevői bizalom ezen cégeknél már megalapozott a saját módszereik által. A gondolatmenetet tovább véve mi magunk is kitalálhatunk olyan vevői bizalmat megalapozó módszereket, mellyel nem csak a saját vállalkozásunk jövőjét alapozzuk meg, de jó példát mutathatunk ezzel a versenytársaknak is.

5.1. A vevői bizalom növelésének lehetősége

Bár dolgozatomban valós eredményeket mutat be a “fehérjeporok” minőségéről, – fehérjetartalom tekintetében azonban –, az átlag fogyasztóhoz ezen információk mégsem fognak eljutni. Ahogy a bevezetésben is megemlítettem, egy egyszerű nyomonkövethetőségi rendszerrel a termékminőség leellenőrzése könnyen, akár otthonról is elérhető, ezért egy ilyen rendszer alapjait szeretném felvázolni, melyről ebben a pontban szeretnék beszélni.

A rendszer nem újkeletű, az Anyagok és módszerek 3.1 pontjában említett Scitec Nutrition már kidolgozta, és használja is a saját nyomonkövethetőségi módszerét. Ennek lényege, hogy a csomagoláson feltüntetett “Batch Number” kódot a http://www.sciteconline.com/protein_analysis/ weboldalon beütve megkaphatjuk a termékünk előzetesen mért fehérjetartalmát százalékra pontosan. Egy ilyen rendszer létrehozásához már komolyabb programozási, webfejlesztési ismeretek szükségesek, ám az adott célt, vagyis a vevő informálását a termékünk pontos, analitikai módszerekkel mért beltartalmi értékéről könnyebben is meg lehet oldani., méghozzá egy, vagy több Excel adatbázis letölthetővé tételével.

Az említett letöltési opciót a fogyasztóvédelem is alkalmazza, mely során pl. visszavont problémás gyermekjátékok listáját tette közzé egy letölthető Excel fájlban.

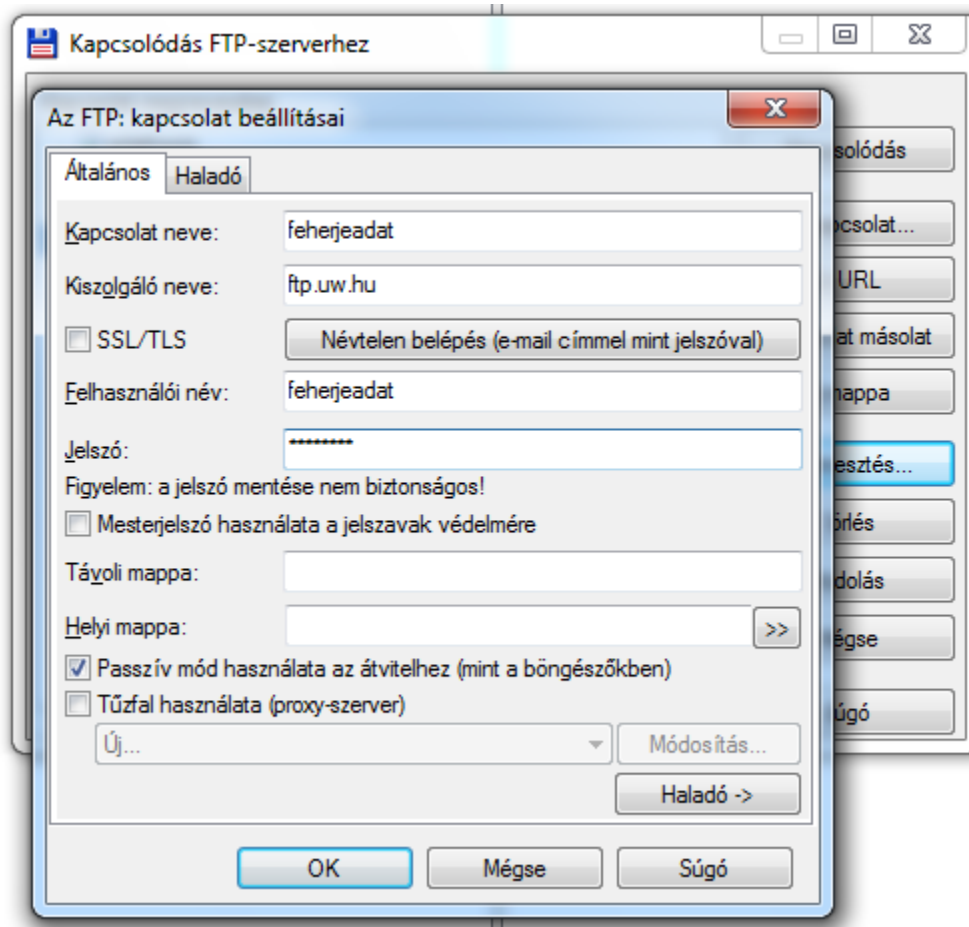
Az élelmiszeripar számos területén lehetne alkalmazni ezt az opciót: import tengeri halak nehézfémtartalmára, tejtermékek mikrobiológiai mutatóira, vagy különböző mikotoxinok koncentrációira az adott termékekben, vagy az általam is vizsgált termékek fehérje koncentrációira. A terméken a gyártási szám, vagy egyéb, kizárólag arra a csomagra/egységre jellemző kóddal jelöljük a laboratórium által vizsgált eredményeket, amit aztán egy excel fájlba mentünk, és Total Commander program használatával „FTP kapcsolat” ponton keresztül feltöltjük a kívánt weboldalra mint letölthető fájlt. A módszer gyakorlati megvalósítását az 1, 2, és 3. képeken kívánom szemléltetni, mely során egy általam létrehozott fiktív weboldalon készítettem el a letölthető adatbázishoz szükséges lépéseket.

A művelet nagyon egyszerű, különösebb informatikai tudás sem kell hozzá, anyagi vonzata sincs emiatt, így akár meglévő weboldalak „Letöltések” lapjára is könnyedén létrehozhatjuk ezt a felületet körülbelül 10-15 perc ráfordítással.

A módszer hátránya, hogy előzetes mérési eredmények szükségesek az eladni kívánt/eladott termékekről, ám az EU szabályozások, kötelező bevizsgálások/vizsgáltatások miatt az eredmények adva lennének. Nagyobb vállalatok saját laboratóriumokat tartanak fenn

önvizsgálat, minőségvizsgálat szempontjából, így a kérdés csupán az, hogy miért nem alkalmazzák ezt a módszert az élelmiszergyártók/forgalmazók?

Az általam készített teszt weboldalt az ingyenes <http://uw.hu/index.jsp> weboldalon készítettem el. Előzetes regisztráció után a tárhely adatait Total Commander programban „FTP kapcsolat” alponthan rögzítettem (1. kép), majd kapcsolódtam a szerverhez.



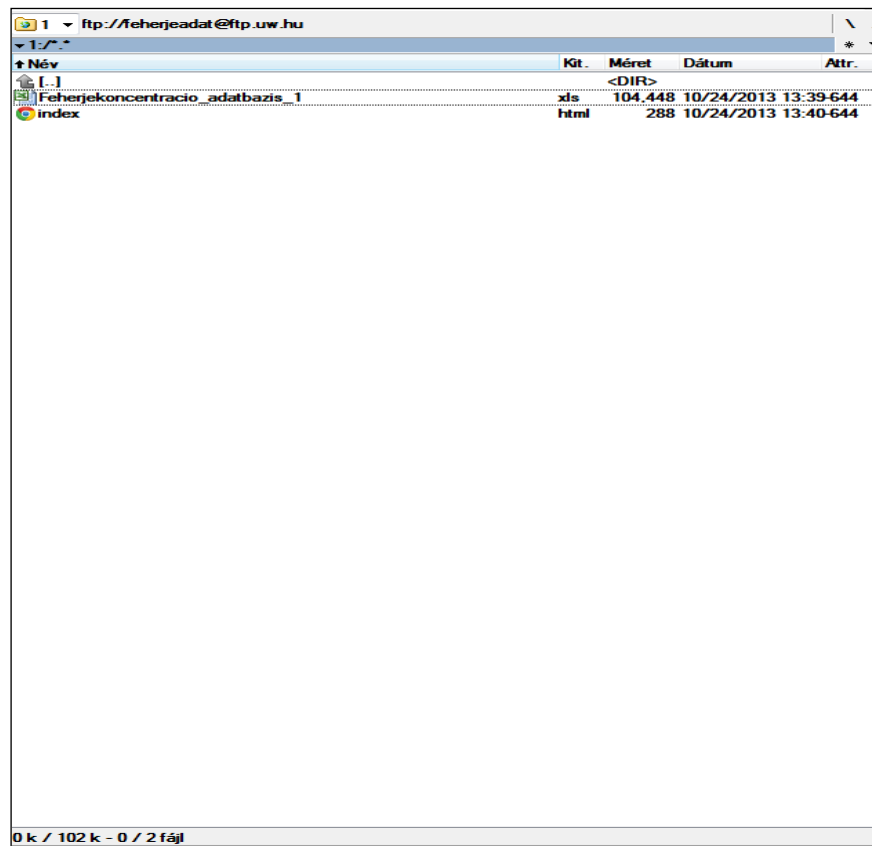
1. kép
FTP kapcsolódás beállításai

A létrehozott szerverre tetszőleges Excel adatbázist töltöttem fel, mely jelen esetben a saját méréseim Excel fájlja, továbbá a weboldal adatait tartalmazó „.html” formátumú dokumentum (2. kép). A dokumentumot egyszerű „Notepad” programmal is lehet szerkeszteni, ahol én az alábbi HTML kódolású szöveget írtam be:

```

<html>
<head>
  <meta http-equiv="content-type" content="text/html; charset=utf-8">
  <title>Teszt</title>
</head>
<body>
  <h1>Teszt</h1>
  <a      href="Feherjekoncentracio_adatbazis_1.xls">Feh&eacute;rje      adatb&aacute;zis
let&ouml;lt&eacute;se 2013-10-24</a><br>
</body>
</html>

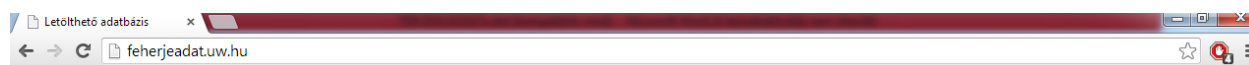
```



2. kép
Adatok feltöltése Total Commanderben

A dokumentum készítése során ékezetes betűket speciális karakterekkel lehet csupán megadni, mely a HTML programozói nyelv sajátossága.

A végső eredményt, vagyis a <http://feherjeadat.uw.hu/> weboldalt a 3. képen szemléltettem. Észrevehető, hogy alul, az összes letöltés megjelenítése fülön ott van a letöltött adatbázis is.



Teszt

[Fehérje adatbázis letöltése 2013-10-24](#)



3. kép
A kész weboldal felülete

Összefoglalás

A magas fehérjetartalmú különleges táplálkozási célú élelmiszerek megítélése ma Magyarországon még mindig nem megfelelő. Fenntartások, tévhitek, összeesküvés elméletek övezik őket. Ezen okokból kiemelt fontosságúnak éreztem, hogy megfelelő felvilágosítást adjak ezen termékekről.

62 darab, kiskereskedelmi forgalomban kapható fehérjekészítmény fehérjetartalmát vizsgáltam meg Biuret próbával, Nessler-módszerrel, és Kjeldahl-módszerrel egyaránt. A kapott eredmények alapján elmondható, hogy 60 minta fehérjetartalma megegyezik a csomagoláson is feltüntetett értékekkel, míg a maradék 2 minta közül az egyik csak részben marad el, a másik összetétele az eredmények alapján nem egyezik a csomagoláson feltüntetettel. Ez alapján elmondható, hogy a jó megítélésű, piacvezető márkák azok, melyek leginkább ajánlhatók fogyasztásra, de a többi Európai Unióban kapható készítmény is kiváló választás, egyik termék sem jelent közegészségügyi kockázatot.

A módszerek összehasonlítása során törekedtem annak a kérdésnek a megválaszolására, hogy ezek mennyire tudnák helyettesíteni a ma standard módszerként használatos Kjeldahl-módszert. Ennek alapján a Biuret-próba tökéletesen alkalmazható valódi fehérjetartalom meghatározásra, míg a Nessler-módszer költségkímélés szempontjából lehet alternatíva. Az eredményeket figyelembe véve észrevehető volt, hogy a Biuret-próba az esetek többségében átlagosan 4,41 %-kal magasabb eredményeket produkált a Kjeldahl-módszerhez képest.

Végezetül, egy nyomonkövethetőségi rendszer alapjait vázoltam fel, mely során letölthető adatbázis készítéséhez tettem közzé segítséget. A módszer könnyen kivitelezhető, 10-15 perc ráfordítással közzé teheti bármely gyártó bármely eredményét a termékükkel kapcsolatban a saját weboldalukon. Az eljárás nem igényel különösebb programozói tudást, és egyszerűsége miatt felvetül a kérdés, hogy miért nem, vagy csak ritka esetben látunk ilyet hazai gyártók weboldalain, termékeik csomagolásán, hogy előzetesen leért beltartalmi paraméterekre kereshetünk az interneten.

Köszönetnyilvánítás

Szeretném megköszönni azok segítségét, illetve munkáját, akik segítségével létrejöhett ez a dolgozat:

Abonyi Gergelynek a HTML nyelv megismertetéséért, Móré Mariannnak, és Tóthné Bogárdi Andreának a labormunkában való önzetlen segítségért. A mintákért külön köszönet Orbán Károlynak, a Corpus Fitness edzőterem tulajdonosának az önzetlen felajánlásokért, Hermann Frédinek, Puskás Sándornak, Ruzsányi Józsefnek, Budaházi Rékának, Nyiszter Richárdnak, és Elek Attilának. Legfőbb köszönetet témavezetőm, Andrási Dávid egyetemi tanársegéd érdemli, aki kitartó munkájával, türelmével, ötleteivel adott lehetőséget ezen dolgozat megírására.

Köszönöm!

Irodalomjegyzék

- [I1]: <http://hir.ma/nincs-kategorizalva/a-feherjepor-szuksegtelen-es-karos-is-lehet/41353>
- [I2]: <http://www.webbeteg.hu/orvos-valaszol/egeszseges/61463>
- [I3]: <http://www.origo.hu/nagyvilag/20090122-melamin-botrany-kina-halalos-itelet-szuletett.html>
- [I4]: <http://frisshir.net/2012/11/04/figyelni-kell-a-dmaa-jelzest-most-is-betiltottak-nehany-etrend-kiegeszitot>
- [I5]: <http://www.slideshare.net/bccresearch/new-microsoft-office-word-document-3-16502190>
- [I6]: <http://www.oeti.hu/?m1id=1&m2id=124>
- [I7]: <http://www.oeti.hu/?m1id=3&m2id=127>
- [I8]: http://www.wheyprotein.hu/egyeniletoltheto/Praktikus_otletek_testepitoknek.pdf
- [I9]: http://www.geafiltration.com/library/quality_membrane_filtration.asp
- [I10]: <http://www.scitecnutrition.com/>
- [I11]: http://elte-biokemia.hu/upload/oktatas/Gyakjegyzet_100209.pdf
- [I12]: <http://biochem.szote.u-szeged.hu/edu/actual/hu/pdf/gyak-feherjebiuret.pdf>
- [I13]: http://mttk.csik.sapientia.ro/data/elelmiszerhamis_minimaliak2012.pdf
- [I14]: http://en.wikipedia.org/wiki/Kjeldahl_method
- [I15]: <http://www.fodorj-szeged.sulinet.hu/~dombovari/minell/Feherje.pdf>
- [I16]: <http://shop.builder.hu/kombinalt-izolatum-koncentratum-tejsavok/vpx-supplements-syngex-2-27-kg-p8325>
- DEWIT J.N., HONTELEBACKX E., ADAMSE M. (1988): Evaluation of functional - properties of whey-protein concentrates and whey-protein isolates. 3. Functional-properties in aqueous-solution. *Netherlands Milk and Dairy Journal*, 427 (2) 155-172. p.
 - MORR C.V., HA E.Y.W. (1993): Whey-protein concentrates and isolates: processing and functional-properties. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 33 (6) 431-476. p.
 - ONWULATA C.I. (Szerk.), HUTH P.J. (Szerk.) (2008): Whey Processing, Functionality and Health Benefits. Singapore: Wiley-Blackwell. 400 p.
 - SMITHERS G.W. (2008): Whey and whey proteins – From 'gutter-to-gold'. *International Dairy Journal*, 18 (7) 695-704. p.
 - SINHA R., RADHA C., PRAKASH J., KAUL P. (2007): Whey protein hydrolysate: Functional properties, nutritional quality and utilization in beverage formulation. *Food Chemistry*, 101 (4) 1484-1491. p.
 - ZYDNEY A.L. (1998): Protein separations using membrane filtration: New opportunities for whey fractionation. *International Dairy Journal*, 8 (3) 243-250. p.
 - ETZEL M.R. (2004): Manufacture and use of dairy protein fractions. *Journal of Nutrition*, 134 (4) 996S-1002S. p.
 - STRATHMANN H., GIORNO L., DRIOLI E. (2006): An Introduction to Membrane Science and Technology. Roma: Consiglio Nazionale delle Ricerche. 394 p.
 - WANG X.L., ZHANG C., OUYANG P. (2002): The possibility of separating saccharides from a NaCl solution by using nanofiltration in diafiltration mode. *Journal of Membrane Science*, 20 (1-2) 271-281. p.

- BRANDSMA R.L., RIZVI S.S.H. (2001): Manufacture of Mozzarella cheese from highlyconcentrated skim milk microfiltration retentate depleted of whey proteins. *International Journal of Food Science and Technology*, 36 (6) 611-624. p.
- ELWELL M.W., BARBANO D.M. (2006): Use of microfiltration to improve fluid milk quality. *Journal of Dairy Science*, 89, E20-E30. p.
- LAWRENCE N.D., KENTISH S.E., O'CONNOR A.J., BARBER A.R., STEVENS G.W. (2008): Microfiltration of skim milk using polymeric membranes for casein concentrate manufacture. *Separation and Purification Technology*, 60 (3) 237-244. p.
- KARLESKIND D., LAYE I., MEI F.I., MORR C.V. (1995): Chemical pretreatment and microfiltration for making delipidized whey-protein concentrate. *Journal of Food Science*, 60 (2) 221-226. p.
- BLANPAIN-AVET P., MIGDAL J.F., BÉNÉZECH T. (2009): Chemical cleaning of a tubular microfiltration membrane fouled with a whey protein concentrate suspension – Characterization of hydraulic and chemical cleanliness. *Journal of Membrane Science*, 337 (1-2) 153-174. p.
- GÉSAN G., DAUFIN G., MERIN U., LABBÉ J.P., QUÉMERAIS A. (1993): Fouling during constant flux cross-flow microfiltration of pretreated whey – Influence of transmembrane pressuregradient. *Journal of Membrane Science*, 80 (1-3) 131-145. p.
- ALMÉCIJA M.C., IBÁÑEZ R., GUADIX A., GUADIX E.M. (2007): Effect of pH on the fractionation of whey proteins with a ceramic ultrafiltration membrane. *Journal of Membrane Science*, 288 (1-2) 28-35. p.
- LUPANO C.E., DUMAY E., CHEFTEL J.C. (1992): Gelling properties of whey-protein isolate – influence of calcium removal by dialysis or diafiltration at acid or neutral pH. *International Journal of Food Science and Technology*, 27 (6) 615-628. p.
- CSAPÓ J., CSAPÓ KISS ZS. (2002): Tej és tejtermékek a táplálkozásban. Budapest: Mezőgazda Kiadó. 464 p.
- HA E., ZEMEL M.B. (2003): Functional properties of whey, whey components, and essential amino acids: mechanisms underlying health benefits for active people. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 14 (5) 251-258. p.
- SZAKÁLY S. (Szerk.) (2001): Tejgazdaságtan. Budapest: Dinasztia Kiadó. 478 p.
- GONZÁLEZ-CHÁVEZ S.A., ARÉVALO-GALLEGOS S., RASCÓN-CRUZ Q. (2009): Lactoferrin: structure, function and applications. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 33 (4) 301.e1-301.e8. p.
- PARK Y.W. (Szerk.) (2009): Bioactive Components in Milk and Dairy Products. Singapore: Wiley-Blackwell. 440 p.