

ROZDÍLNÉ PŘÍSTUPY K ÚPRAVĚ VZORKU PŘI STANOVENÍ LAKTÓZY V POTRAVINOVÝCH MATRICÍCH ENZYMOVOU METODOU

DIFFERENT APPROACHES TO SAMPLE PREPARATION IN THE DETERMINATION OF LACTOSE IN FOOD MATRICES BY THE ENZYME METHOD

Jan Pospíšil, Jan Gregar, Julie Wahlová, Pavla Slezáková, Lenka Vorlová

Department of Animal Origin Food & Gastronomic Sciences, University of Veterinary Sciences Brno, CZ

ABSTRAKT

Cílem příspěvku je popsat odlišnosti a kritické body v postupech úpravy vzorků, odebíraných za účelem stanovení obsahu laktózy enzymovou metodou. Metoda využívající komerční analytický kit K-LACGAR (Megazyme, IE) je odvozena od metody AOAC 984.15 a je založena na enzymově řízených biochemických reakcích. Detekce koncového produktu je prováděna spektrofotometricky při 340 nm, v našem případě na přístroji Specord 200 Plus (Analytik Jena, DE). Vzorky zahrnovaly primárně různé mléčné výrobky od tekutých (mléko, smetana), přes polotuhé (jogurty, kefíry, cottage), až po tuhé matrice (tvrdé dlouho zrající sýry, mléčná čokoláda). Analyzovány byly i vzorky spadající do kategorie výrobků bezlaktózových či s nízkým obsahem laktózy, definovaných v české legislativě Vyhláškou č. 54/2004 Sb. v platném znění.

Keywords: galaktóza, bezlaktózové výrobky, nízkolaktózové výrobky

Materiál a metodika

Odběr vzorků byl prováděn primárně z tržní sítě ČR. U vzorků dlouho zrajících sýrů byly odběry prováděny přímo ze skladů výrobce před uvedením do tržní sítě. Vlastní stanovení obsahu laktózy u všech vzorků proběhlo v den odběru. Do vyšetření byly vzorky uchovávány v chladničce při teplotě 4-6 °C.

Přístrojové vybavení:

- homogenizátor IKA Ultra Turrax DI 25 Basic (IKA-Werke, DE)
- analytické váhy Boeco BAS 31 Plus (Boeckel + Co, DE)
- magnetická míchačka s regulací teploty MLW typ RH3 (MLW, PL)
- chlazená odstředivka Hermle Z 326 K (Hermle Labortechnik, DE)
- vodní lázeň GFL 1002 (Gesellschaft für Labortechnik, DE)
- Třepačka IKA yellowline TTS2 (IKA-Werke, DE)
- spektrofotometr Specord 200 Plus (Analytik Jena AG, DE)

Metoda A

Vhodná pro tekuté, polotuhé i tuhé vzorky většiny potravinových matric s výjimkou nízko-laktózových a bezlaktózových výrobků.

Postup:

- U polotuhých matric (Cottage apod.) homogenizace tyčovým dispergátorem
- Navážka 0,5 – 10 gramů, dle povahy matrice
- Přídavek 60 ml destilované vody
- Záhřev 15 min ve vodní lázni (tekuté matrice), nebo na magnetické míchačce s ohřevem (polotuhé a tuhé matrice)
- Převedení vzorku do odměrné baňky o objemu 100 ml
- Carezzovo srážení a úprava pH rozokem hydroxidu sodného
- Doplnění destilovanou vodou na celkový objem 100 ml
- Po 5 – 30 minutách filtrace přes papír Whatman No. 1 (Whatman International, UK)
- Pro vlastní stanovení se odebere 0,2 ml čirého filtrátu

Metoda B

Je primárně určena pro vzorky potravinových matric s nízkým obsahem laktózy, či bezlaktózové potraviny. Lze ji použít i pro klasické mléčné výrobky, ale v takovém případě je třeba získaný filtrát vhodně naředit před vlastním spektrofotometrickým měřením.

Postup:

- Navážka 1 g, nebo 1 ml (dle povahy matrice) do uzavíratelné centrifugační zkumavky o objemu 50 ml
- Přídavek 4 ml destilované vody
- Přídavek 1 ml čerstvě připraveného roztoku borohydridu sodného
- Uzavření zkumavky a promíchání na třepačce
- Inkubace ve vodní lázni 30 minut při 40°C
- Neutralizace přídavkem 2,5 ml 0,2 M kyseliny octové
- Centrifugace 10 minut při 3000 rpm a 4°C
- U matric kde vzniká křehká povrchová vrstva lehčích částic je třeba vzorek ještě zfiltrovat přes papír Whatman No. 1
- Pro vlastní stanovení se odebere 0,2 ml filtrátu, mírné zakalení filtrátu nemá vliv na přesnost výsledků.

Spektrofotometrie

Podmínky měření:

- Vlnová délka 340 nm
- Teplota 25°C
- Jednorázové PMMA kyvety o délce hrany 1 cm
- Nulování přístroje proti prázdné kyvetové prostoře

Závěr

U metody A jsou kritickými faktory teplota matrice a doba nutná pro získání homogenního vzorku pro navažování, dále správné vysrážení proteinů a finální úprava pH vzorku. U metody B je kritickým faktorem stáří roztoku borohydridu, jeho správná příprava a skladování výchozí látky pro jeho přípravu.

Vznik příspěvku byl finančně podpořen z prostředků institucionální podpory dlouhodobého koncepčního rozvoje výzkumných organizací.

KONTAKTNÍ ADRESA:

Mgr. Jan Pospíšil, Ústav hygieny a technologie potravin živočišného původu a gastronomie, Fakulta veterinární hygieny a ekologie, Veterinární univerzita Brno, Palackého 1, 612 42, Brno, Česká republika

Email: POSPISILJ@VFU.CZ