

wartości odżywczej. Mimo że nasiona roślin strączkowych (w szczególności soi) zawierają znaczne ilości białka, to jest ono częściowo niepełnowartościowe z powodu niedostatecznej zawartości metioniny. Również wartość odżywcza białek zbóż jest ograniczona z powodu niedoboru lizyny.

Zawartość białka oraz jego wartość odżywczą w wybranych produktach spożywczych, wyznaczoną za pomocą wskaźnika aminokwasu ograniczającego, przedstawiono w tabeli 1. Wskaźnik aminokwasu ograniczającego określa stopień wykorzystania aminokwasów danego białka do budowy białek ustrojowych. Określa się go po porównaniu składu aminokwasowego białka ze wzorcem FAO. Wysoka wartość wskaźnika aminokwasu ograniczającego jest charakterystyczna dla białek pełnowartościowych.

**Tabela 1. Zawartość białka i jego wartość odżywcza w wybranych produktach spożywczych**

<b>Rodzaj produktu</b>	<b>Średnia zawartość białka w g/100 g produktu</b>	<b>Wskaźnik aminokwasu ograniczającego według wzorca FAO</b>
Jaja całe	12,0	100,0
Wołowina	21,0	100,0
Dorsz	16,0	99,0
Mleko krowie	3,0	98,0
Soja	35,0	78,0
Kasza jęczmienna	8,8	67,0
Fasola	22,0	55,0
Ziemniaki	1,7	54,8
Pieczywo pszenne	5,8	46,8
Pomidory	0,9	34,8
Pomarańcze	0,9	28,9
Orzechy włoskie	16,0	22,0

Źródło: Opracowanie własne na podstawie: (Gawęcki i Hryniewiecki, 2000).

## **2. Lipidy**

Lipidy (tłuszczowce) stanowią obszerną grupę związków organicznych rozpuszczalnych w rozpuszczalnikach niepolarnych, takich jak chloroform, eter dietylowy, naftowy, tetrachlorek węgla, heksan, benzen, metanol, a nierozpuszczalnych w wodzie. Ich źródłem w żywieniu są zarówno surowce pochodzenia roślinnego, jak i zwierzęcego.

Głównym składnikiem lipidów żywności są triacyloglicerole. Towarzyszą im substancje występujące w mniejszych ilościach, takie jak: diacyloglicerole, monoacyloglicerole, wolne kwasy tłuszczowe, fosfolipidy,

produkty utlenienia lipidów oraz substancje nieglicerydowe: tokoferole, tokotrienole, związki fenolowe, sterole (cholesterol oraz fitosterole), stanole, chlorofile, karotenoidy, skwalen (tabela 2). Na określenie lipidów żywności zwyczajowo używa się terminu „tłuszcz” albo „olej”. Użyte w tym kontekście określenia dotyczą złożonej mieszaniny triacylogliceroli i substancji towarzyszących.

**Tabela 2. Przeciętna zawartość wybranych składników frakcji glicerydowej i nieglicerydowej w lipidach żywności**

<b>Składniki frakcji glicerydowej</b>	<b>Zawartość</b>
Triacyloglicerole	85–99%
Diacyloglicerole	0–9,0%
Monoacyloglicerole	0–0,2%
Wolne kwasy tłuszczowe	0,1–9,5%
Fosfolipidy	0,01–0,1%
<b>Składniki frakcji nieglicerydowej</b>	
Tokoferole	0,01–0,2%
Tokotrienole	0–0,15%
Chlorofile	0–0,02%
Karotenoidy	0–0,25%
Fitosterole	0,4–2%
Cholesterol	0–2%
Skwalen	0,005–30%

Źródło: Opracowanie własne na podstawie: (Przybylski, 2004; Belitz i Grosch, 1999; Drozdowski, 2000).

Znaczenie lipidów w produkcji żywności wykracza poza rolę tłuszczu jako składnika energetycznego i odżywczego oraz nośnika substancji biologicznie czynnych. Wysoki udział tłuszczów w żywieniu człowieka wynika z roli, jaką tłuszcze odgrywają w postrzeganiu smakowitości potraw. Tłuszcze wpływają na cechy organoleptyczne żywności, takie jak np. barwa, zapach, smak, konsystencja, chrupkość, kruchość, soczystość, mazistość, napowietrzenie, listkowanie, gładkość. Kształtowanie pożądaných walorów organoleptycznych żywności jest możliwe dzięki takim właściwościom tłuszczów, jak hydrofobowość, zdolność rozpuszczania substancji lipofilnych (np. substancji aromatycznych), zdolność tworzenia emulsji i pian oraz kompleksów z białkami i sacharydami, zdolność przewodzenia ciepła i osiągnięcia temperatur przekraczających 100°C. Odpowiednie modyfikacje składu oraz właściwości lipidów umożliwiają wyprodukowanie tłuszczów wykorzystywanych np. w piekarnictwie, cukiernictwie i jako tłuszcze smaźalnicze, posiadających szereg szczególnych właściwości użytecznych

podczas ich stosowania, takich jak plastyczność, odpowiednia temperatura mięknienia i topnienia (umożliwiająca rozplýwanie się w temperaturze ciała człowieka, tj. dopiero po spożyciu), zdolność napowietrzania się, niepryskanie podczas smażenia.

Zawartość tłuszczu w produktach spożywczych jest zróżnicowana (tabela 3).

**Tabela 3. Przeciętna zawartość tłuszczu w wybranych surowcach i produktach spożywczych**

<b>Surowiec lub produkt</b>	<b>Zawartość tłuszczu w g/100 g</b>
Banan	0,3
Cielęcina	2,5–3
Płatki kukurydziane	2,5
Kefir, jogurt	0–3
Chleb, makaron	0,4–2,6
Szczupak, sandacz	0,5–1,0
Tuńczyk	4–5
Białko jaj	0,2
Wieprzowina	4–23
Jaja	12–14
Awokado	15
Śledź, pstrąg, sardynka	10–15
Węgorz	25
Żółtko	28
Sery żółte	25–30
Czekolada	30–35
Awokado	15
Chipsy ziemniaczane	40

Źródło: Opracowanie własne na podstawie: (Kunachowicz i in., 2018).

### **3. Metody oznaczania zawartości białka i lipidów**

#### **3.1. Metody oznaczania białka**

Do ilościowego oznaczania białek w produktach spożywczych wykorzystuje się metody bezpośrednie i pośrednie.

**Metody bezpośrednie.** Opierają się na oznaczeniach spektrofotometrycznych, nefelometrycznych lub refraktometrycznych białek znajdujących się

w roztworze. Wśród oznaczeń spektrofotometrycznych należy wymienić metodę biuretową oraz metodę Lovry'ego. Metoda biuretowa opiera się na reakcji wiązań peptydowych z jonami miedzi  $\text{Cu}^{2+}$ , w wyniku której powstają barwne kompleksy. Stosowanie tej metody jest ograniczone obecnością soli amonowych, które również dają barwną reakcję z jonami miedzi. Metoda Lovry'ego służy do oznaczania białek rozcieńczonych. W metodzie tej najpierw zachodzi reakcja biuretowa, a następnie redukcja odczynnika fosfomolibdeno-fosforowolframowego (odczynnik Folina-Ciocalteu) przez kompleks białkowo-miedziowy. Stężenie białka wyznacza się na podstawie pomiaru absorbancji.

Na pomiarze spektrofotometrycznym oparta jest także metoda immunoenzymatyczna (ELISA), w której na skutek reakcji odpowiednich przeciwciał i badanego białka z enzymem powstaje barwny związek.

Do oznaczania białka stosuje się też metody oparte na tworzeniu barwnych kompleksów białek z pewnymi barwnikami (np. czernią amidową 10B, oranżem G) oraz metodę formolową, polegającą na miareczkowym oznaczeniu ilości jonów wodorowych uwolnionych na skutek reakcji formaldehydu z resztami zasadowymi aminokwasów. Istnieją także metody polegające na wytrąceniu białka z roztworu i wagowym oznaczeniu wytrąconego osadu.

**Metody pośrednie.** Polegają najczęściej na ilościowym oznaczeniu zawartości azotu, a następnie przeliczeniu go na białko przy użyciu odpowiednich współczynników przeliczeniowych. W produktach spożywczych oznacza się tzw. azot ogólny (oprócz azotu białkowego jest to azot pochodzący z produktów odbudowy białek oraz z różnych grup chemicznych innych związków organicznych).

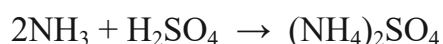
Przeciętna zawartość azotu w białkach wynosi ok. 16%, stąd współczynnik przeliczeniowy 6,25 ( $100:16 = 6,25$ ). Iloczyn mnożnika 6,25 i ilości azotu ogólnego daje zawartość tzw. białka surowego. Ponieważ białka produktów żywnościowych różnią się składem ilościowym i jakościowym, odmienna jest też w nich zawartość azotu. Dlatego dla poszczególnych artykułów spożywczych stosuje się różne współczynniki przeliczeniowe, np. dla białka mleka – 6,38, białka mięsa – 6,25, białka w żółtku jaja kurzego – 6,67, białka żyta, pszenicy i owsa – 5,70. Stosowane mnożniki podaje się obok oznaczonej zawartości białka w postaci (przykładowo dla mleka): N 6,38.

Metody pośrednie można stosować wówczas, gdy produkt nie zawiera innych związków azotowych poza białkowymi albo zawiera ich niewiele.

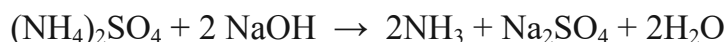
Najczęściej stosowaną metodą oznaczania azotu w produktach spożywczych jest **metoda Kjeldahla**, stosowana z niewielkimi modyfikacjami od 1883 roku. Zasada tej metody opiera się na przeprowadzeniu mineralizacji badanej próby ze stężonym kwasem siarkowym (VI) („na mokro”),

zalkalizowaniu roztworu, a następnie na oddestylowaniu i ilościowym oznaczeniu powstałego amoniaku.

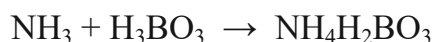
Podczas mineralizacji próby w kolbie Kjeldahla, w obecności katalizatorów, następuje utlenianie związków organicznych próby do dwutlenku węgla, wody oraz amoniaku. Jako katalizatory najczęściej stosuje się siarczan miedzi, selen, tlenek selenu. Można również stosować środki podwyższające temperaturę spalania, np. siarczan (VI) sodu lub potasu oraz środki utleniające. Powstały w czasie mineralizacji amoniak tworzy w środowisku kwasu siarkowego sól amonową:



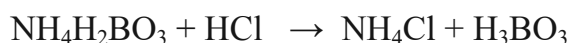
Siarczan (VI) amonu rozkłada się po zalkalizowaniu roztworu za pomocą wodorotlenku sodu:



Wydzielony amoniak oddestylowuje się do odbieralnika zawierającego roztwór słabego kwasu, np. borowego, występującego w nadmiarze. Następuje wówczas związanie amoniaku w formę soli amonowej kwasu borowego:



Związany amoniak odmiareczkowuje się mianowanym roztworem silnego kwasu, np. solnego:



Ilość azotu w próbie oblicza się z ilości mililitrów kwasu zużytego do miareczkowania, wiedząc, że 1 cm<sup>3</sup> 0,1-molowego kwasu solnego odpowiada 1,401 mg azotu.

W odbieralniku może również się znajdować mianowany roztwór silnego kwasu, np. siarkowego (VI). Oznaczenie azotu polega wówczas na miareczkowaniu niezwiązanego kwasu za pomocą wodorotlenku sodu. Metodą Kjeldahla oznacza się azot z połączeń białkowych oraz jonów amonowych, grup amidowych, aminowych oraz iminowych. Nie są oznaczane azotany (III) i (V) oraz azot aromatycznych pierścieni heterocyklicznych.

Opierając się na metodzie Kjeldahla, skonstruowano automatyczne urządzenia służące do oznaczania azotu. Przykładem mogą być aparaty Kjeltec firmy Tecator. Po mineralizacji zachodzącej w jednostce mineralizacyjnej próbki są przenoszone do innej jednostki, w której rozcieńczanie próbki, dozowanie

## Wykonanie oznaczenia

### Próba orientacyjna

1. Przygotowany roztwór kontrolny wlać do biurety przeznaczonej do miareczkowania na gorąco.
2. Przed wykonaniem oznaczania sacharydów należy przeprowadzić próbę orientacyjną. W tym celu do kolby stożkowej o pojemności 100 cm<sup>3</sup> odmierzyć pipetą po 5 cm<sup>3</sup> odczynników Fehlinga I i II, dodać z biurety 15 cm<sup>3</sup> badanego roztworu sacharydu, ogrzewać na czaszy grzejnej do wrzenia. Mieszaninę doprowadzić do wrzenia w ciągu około 2 minut i **utrzymywać w stanie łagodnego wrzenia 2 minuty**.
3. Następnie dodać 2-3 krople błękitu metylenowego i **nadal utrzymując łagodne wrzenie**, dodawać z biurety badany roztwór sacharydu aż do zaniku barwy niebieskiej wrzącego roztworu i przejście w barwę **ceglastoczerwoną**.

**UWAGA!** Jeżeli ciecz po dodaniu 15 cm<sup>3</sup> roztworu sacharydu i zagotowaniu ulegnie odbarwieniu, badany roztwór należy odpowiednio rozcieńczyć i próbę orientacyjną powtórzyć. Po zakończeniu miareczkowania obliczyć łączną ilość cm<sup>3</sup> zużytego roztworu sacharydu, uwzględniając odmierzone do kolby 15 cm<sup>3</sup>.

### Próba właściwa

1. Do kolby stożkowej z płynami Fehlinga I i II (5 + 5) dodać od razu objętość badanego roztworu sacharydu **mniej niż o 1-3,0 cm<sup>3</sup> od łącznej objętości zużytej w próbie orientacyjnej**.
2. Mieszaninę doprowadzić do wrzenia, gotować dokładnie przez 2 minuty, a następnie, **nie przerywając łagodnego wrzenia, dodać 2-3 krople roztworu wskaźnika** (błękitu metylenowego) i domiareczkować badanym roztworem sacharydu, tak aby odbarwienie błękitu metylenowego i przejście do **ceglastoczerwonej** barwy nastąpiło z końcem trzeciej minuty.

### Obliczanie wyniku

Na podstawie ilości cm<sup>3</sup> badanego roztworu glukozy zużytej do całkowitego zredukowania miedzi zawartej w 10 cm<sup>3</sup> mieszaniny roztworów Fehlinga (5+5) z tabeli 2 odczytać odpowiadającą jej ilość cukru redukującego (glukozy) w mg. Stężenie badanego roztworu (X) w **mg/cm<sup>3</sup>** obliczyć według wzoru:

$$X = \frac{a}{b}$$

w którym:

a – ilość glukozy odczytana z tabeli 2, w mg,

b – ilość roztworu kontrolnego zużyta w próbie właściwej, w cm<sup>3</sup>.

Należy wykonać **dwa równoległe oznaczenia** zawartości glukozy w roztworze kontrolnym. Wynik zaokrąglić do pierwszego miejsca po przecinku.

**Tabela 2. Zależność między ilością glukozy znajdującą się w określonej objętości roztworu, która zredukowała miedź zawartą w 10 cm<sup>3</sup> roztworów Fehlinga (5+5), a ilością badanego roztworu zużytego do zmiareczkowania**

Ilość badanego roztworu zużyta do zmiareczkowania (w cm <sup>3</sup> )	Ilość glukozy (sacharydu redukującego), (w mg) [a]	Ilość badanego roztworu zużyta do zmiareczkowania (w cm <sup>3</sup> )	Ilość glukozy (sacharydu redukującego) (w mg) [a]
15	49,1	33	50,3
16	49,2	34	50,3
17	49,3	35	50,4
18	49,3	36	50,4
19	49,4	37	50,5
20	49,5	38	50,5
21	49,5	39	50,6
22	49,6	40	50,6
23	49,7	41	50,7
24	49,8	42	50,7
25	49,8	43	50,8
26	49,9	44	50,8
27	49,9	45	50,9
28	50,0	46	50,9
29	50,0	47	51,0
30	50,1	48	51,0
31	50,2	49	51,0
32	50,2	50	51,1

Źródło: (Kasperek, Krauze, A. i Krauze, J., 1977).

## **2.2. Oznaczenie zawartości cukrów ogółem w roztworze kontrolnym**

### **Przeprowadzenie inwersji w celu oznaczenia zawartości cukrów ogółem**

#### **Odczynniki**

- fenoloftaleina, roztwór 1-procentowy alkoholowy,
- kwas solny HCl, stężony,
- wodorotlenek sodu NaOH, roztwór 10-procentowy.

### **Sprzęt**

- kolba miarowa o pojemności 250cm<sup>3</sup>,
- łaźnia wodna,
- pipety szklane,
- termometr.

### **Wykonanie oznaczenia**

1. Do kolby miarowej o pojemności 250 cm<sup>3</sup> odmierzyć 50 cm<sup>3</sup> roztworu podstawowego.
2. Dodać 5 cm<sup>3</sup> stężonego kwasu solnego, zawartość kolby delikatnie wymieszać.
3. Kolbę wstawić do łaźni wodnej o temperaturze 80°C, w ciągu 2–3 minut doprowadzić temperaturę roztworu do 68–71°C i utrzymywać przez kolejne 8–10 min.
4. Kolbę ochłodzić w strumieniu wody wodociągowej.
5. Schłodzony roztwór zobojętnić za pomocą 10-procentowego roztworu NaOH wobec oranżu metylowego (zmiana zabarwienia próbki na kolor żółty).
6. Dopełnić wodą destylowaną do kreski.

**UWAGA!** Oznaczenie należy wykonać bardzo dokładnie, gdyż zmiana ilości kwasu solnego (zmiana stężenia kwasu podczas inwersji) może spowodować niecałkowity rozkład oligosacharydów (głównie sacharozy), polisacharydów do glukozy i fruktozy, z kolei wydłużenie czasu lub podniesienie temperatury może spowodować rozkład produktów hydrolizy.

**W celu oznaczenia zawartości cukrów ogółem powtórzyć procedurę z punktu 2.1, w obliczeniach, uwzględniając rozcieńczenie próby.**

### **2.3. Oznaczanie zawartości cukrów redukujących (metodą Lane-Eynona) w karmelkach twardych**

#### **Odczynniki**

- fenoloftaleina, roztwór 1-procentowy alkoholowy,
- wodorotlenek sodu NaOH, roztwór 0,1-molowy.

#### **Sprzęt**

- kolba miarowa o pojemności 250 cm<sup>3</sup>,
- waga analityczna,
- zlewka o pojemności 200 cm<sup>3</sup>.



### Przygotowanie roztworu karmelków twardych

1. 2–3 karmelki rozetrzeć w suchym moździerzu.
2. Z dokładnością do  $\pm 0,01$  odważyć około 2 g rozartych cukierków, przenieść do zlewki i rozpuścić je w  $100 \text{ cm}^3$  ciepłej wody destylowanej.
3. Całość zobojętnić 0,1-molowym roztworem NaOH wobec fenoloftaleiny do **słabo różowego** zabarwienia.
4. Przenieść ilościowo do kolby miarowej na  $250 \text{ cm}^3$  i dopełnić wodą destylowaną do kreski.

### Wykonanie oznaczenia

Oznaczenie należy wykonać dokładnie tak samo, jak w przypadku oznaczenia zawartości glukozy w roztworze kontrolnym w p. 2.1.

### Obliczanie wyniku

Procentową zawartość oznaczanych cukrów redukujących (glukozy) w badanym produkcie (X) w przeliczeniu na suchą masę obliczyć według wzoru:

$$X = \frac{\frac{a}{b} \cdot 100}{m} \cdot \frac{100}{100 - w}$$

w którym:

- a – ilość sacharydu redukującego odczytana z tabeli 2, w mg,
- b – ilość roztworu zużyta w próbie właściwej, w  $\text{cm}^3$ ,
- m – masa badanego produktu zawarta w  $1 \text{ cm}^3$  roztworu użytego do miareczkowania, w mg (przy obliczeniach należy uwzględnić ewentualne rozcieńczenia prób),
- w – wilgotność próbki, w % (4%).

Należy wykonać dwa równoległe oznaczenia zawartości sacharydów redukujących (glukozy) w roztworze podstawowym. Wynik zaokrąglić do pierwszego miejsca po przecinku.

**UWAGA!** Oznaczenie należy wykonać bardzo dokładnie, gdyż zmiana ilości kwasu solnego (zmiana stężenia kwasu podczas inwersji) może spowodować niecałkowity rozkład oligosacharydów (głównie sacharozy), polisacharydów do glukozy i fruktozy, z kolei wydłużenie czasu lub podniesienie temperatury może spowodować rozkład produktów hydrolizy.

## Interpretacja wyniku

**Tabela 3. Zawartość suchej masy i cukrów redukujących w karmelkach twardych**

Cechy	Karmelki twarde nienadziewane	Drażetki	Pomadki nienadziewane
Zawartość suchej masy, w %, nie mniej niż	96,5	86,0	84
Zawartość cukrów redukujących, jako cukier inwertowany w suchej masie, w %, nie więcej niż	25 (28 <sup>a</sup> )	20	25
Zawartość popiołu nierozpuszczalnego w roztworze kwasu chlorowodorowego o stężeniu 4 mol/l, w %, nie więcej niż	0,1		

<sup>a</sup> Dla karmelków twardych wyprodukowanych metoda wylewania.

Źródło: Na podstawie: PN–A–88104:1998/Az1: 20002P.

## Literatura uzupełniająca

1. Filipiak, M., Gliszczyńska, A. i Krauze, J. (red.). (1999). *Materiały do ćwiczeń z biochemii*. Poznań: Wydawnictwo Akademii Ekonomicznej w Poznaniu
2. Gawęcki, J. (red.). (1998). *Współczesna wiedza o węglowodanach*. Poznań: Wydawnictwo Akademii Rolniczej w Poznaniu.
3. Krełowska–Kułas, M. (1993). *Badanie jakości produktów spożywczych*. Warszawa: PWE.
4. Małecka, M. i Samotyja, U. (red.). (2018). *Kształtowanie jakości żywności. Wybrane zagadnienia*. Poznań: Wydawnictwo Uniwersytetu Ekonomicznego w Poznaniu.
5. Sikorski, Z. E. (red.). (2000). *Chemia żywności* (wyd. 3). Warszawa: Wydawnictwo Naukowo–Techniczne.