



ŠOLSKI CENTER CELJE
Srednja šola za elektrotehniko in kemijo

DOLOČITEV BELJAKOVIN IN VLAGE V RAZLIČNIH VRSTAH MESA

RAZISKOVALNA NALOGA



AVTORJA: Špela Viher in David Holobar

LETNIK: 4.

MENTOR: Irena Drofenik, univ. dipl. kem.

ŠOL. LETO: 2008/2009

ZAHVALA

Največjo zahvalo bi namenila mentorici ge. **Ireni Drofenik** za vse nasvete, pomoč in delo v laboratoriju.

Zahvaljujeva se tudi prof. **Andreji Tkalec** za lektoriranje raziskovalne naloge.

Prav tako se zahvaljujeva vsem ostalim, ki so na kakršenkoli način pomagali.

KAZALO

1. POVZETEK	4
2. UVOD	5
2.1. METODE DELA	6
3. TEORETIČNI DEL.....	7
3.1. METODE MERJENJA.....	8
3.1.1. TITRACIJA	8
3.1.2. KJELDAHLOVA METODA	9
3.1.3. DOLOČITEV VLAGE - SUŠENJE.....	10
3.2. CILJI	10
4. EKSPERIMENTALNI DEL NALOGE	11
4.1. UVOD K EKSPERIMENTALNEM DELU.....	12
4.1.1. PRIPOMOČKI ZA DOLOČITEV BELJAKOVIN	12
4.1.2. DOLOČITEV VLAGE	12
4.2. DELO.....	13
4.3. MERITVE IN RAČUN	17
4.3.1. KJEDAHLOVA METODA	17
4.3.2. DOLOČANJE VLAGE – SUŠENJE	18
4.3.3. STANDARDIZACIJA NaOH	19
4.4. REZULTATI	19
4.4.1. KJEDAHLOVA METODA	19
4.4.2. SUŠENJE	20
4.4.3. PRIMERJAVA DELEŽA BELJAKOVIN IN VLAGE	20
4.4.4. STANDARDIZACIJA NaOH	22
4.5. KOMENTAR REZULTATOV	22
5. ZAKLJUČEK.....	23
6. LITERATURA.....	24

1. POVZETEK

Zaradi izbirnega predmeta biotehnologija in zanimive snovi o beljakovinah in aminokislinah, nas je zanimalo, kako bi v šolskem laboratoriju lahko določili vsebnost beljakovin in odstotek vlage v različnih vrstah mesa, predvsem nam najbolj običajnih. To so svinjina, govedina, puranje meso, ribje meso in meso zajca (kunec).

Vzorce mesa smo kupili v slovenskem supermarketu v kosu in jih v laboratoriju zmleli ozziroma narezali na izredno majhne koščke. Beljakovine v mesu smo določili s pomočjo Kjedahlove metode, odstotek vlage pa s sušenjem v sušilniku.

Največji delež beljakovin je v svinjinji in sicer 23,7 %. V puranjem mesu smo določili skoraj enako vrednost to je 23,5 %. Podobno vrednost imata tudi zajec (23,1 %) in govedina (23,3 %). Ribje meso vsebuje najmanj beljakovin in sicer samo 15,2 %.

Največji odstotek vlage 81,4 % je v ribjem mesu. Svinjina je vsebovala najmanjši delež vlage in sicer 63,3 %. Razlika vsote deležev beljakovin in vlage do 100 % je v tem primeru večja od ostalih, kar je verjetno povezano s tem, da svinjina vsebuje veliko maščob. Nizek delež vlage ima tudi zajče meso, to je 65,1 %. Goveje in puranje meso sta po deležu vlage v sredini.

2. UVOD

Beljakovina je kompleksna organska molekula, sestavljena iz najmanj 50 verižno povezanih aminokislin. Razlikujemo enostavne beljakovine (proteini) in sestavljeni beljakovini (proteidi). Ime proteini se pogosto uporablja tudi za beljakovine na splošno.

V hrani se navadno nahajajo beljakovine, ki jih prebavni encimi razgradijo na posamezne aminokisline, te pa se ponovno uporabijo za sintezo telesu lastnih beljakovin. Nekatere živali, na primer ličinke muh, beljakovin niso sposobne razgraditi samostojno in zato potrebujejo prisotnost določenih mikroorganizmov, ki razgradnjo opravijo namesto njih.

Vsaka živa celica je sposobna sintetizirati beljakovine. Delček zaporedja DNK se najprej prepiše v RNK, na ribosomih pa se prevede v zaporedje aminokislin. Beljakovine so osrednjega pomena za celično presnovo. Kadar celici primanjkuje aminokislin za izgradnjo beljakovin, se sintetizirajo okvarjene beljakovine ali pa se njihova sinteza povsem ustavi, kar lahko vodi v celično smrt.

Beljakovine se v živih bitjih pojavljajo kot: encimi, s katerimi potekajo skoraj vsi življenjski procesi, gradbeni elementi, npr. roževina ali keratin, barvila ali pigmenti in kot strupi.



Slika 1: Sardele.

2.1. METODE DELA

Določitev beljakovin in odstotka vlage v mesu smo opravljali v šolskem laboratoriju. Vsak vzorec mesa smo zmleli in z destilacijo po Kjedahlu in titraciji odvečne žveplove kisline določili beljakovine. Vzorcem smo določili tudi odstotek vlage, in sicer s sušenjem do konstante mase v sušilniku.

3. TEORETIČNI DEL

3.1. METODE MERJENJA

3.1.1. TITRACIJA

Med titracijo poteka kemijska reakcija med našim vzorcem (analitom) in raztopino, katere koncentracija je znana - imenujemo jo standardna raztopina (pogosto tudi titrant).

Standardno raztopino običajno nalijemo v bireto. Poznati moramo stehiometrično razmerje (kemijsko reakcijo) med analitom in titrantom in po končani titraciji (ko imamo znan volumen titranta in analita) lahko izračunamo koncentracijo našega analita.



Slika 2: Titracija odvečne žveplove (VI) kisline.

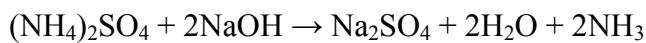
3.1.2. KJELDAHOVA METODA

Metoda temelji na segrevanju vzorca z žveplovo (VI) kislino, ki oksidira beljakovine v amonijev sulfat (VI). Oksidacija oziroma razklop je končan, ko se barva raztopine vzorca spremeni iz temno rjave v svetlo zeleno. Dodatek natrijevega hidroksida v raztopino povzroči izgon amoniaka iz amonieve soli. Destiliramo, v predložki imamo raztopino žveplove (VI) kisline, v katero uvajamo amoniak. Preostanek žveplove kisline titriramo.

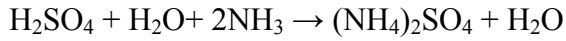
RAZKLOP BELJAKOVIN



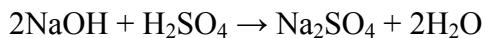
IZGON AMONIAKA



LOVLJENJE (nevtralizacija) AMONIAKA



TITRACIJA ODVEČNE ŽVEPLOVE (VI) KISLINE



Slika 3: Kjedahlova destilacija.

3.1.3. DOLOČITEV VLAGE - SUŠENJE

Sušenje v sušilniku temelji na izparevanju vlage oziroma tekočin zaradi kroženja toplega zraka. Vzorce vedno sušimo do konstantne mase in jih pustimo ohlajati v eksikatorju.



Slika 4: Sušilnik.

3.2. CILJI

Cilj te naloge je raziskati količino beljakovin in odstotek vlage v najbolj pogostih vrstah mesa.

4. EKSPERIMENTALNI DEL NALOGE

4.1.**UVOD K EKSPERIMENTALNEM DELU**

Pri določanju beljakovin in odstotka vlage v mesu je potrebno paziti na čistost inventarja in sveže vzorce, predvsem pa moramo biti natančni.

4.1.1.**PRIPOMOČKI ZA DOLOČITEV BELJAKOVIN**

- INVENTAR:

- bučka z okroglim dnom, 500 mL,
- erlenmajerica, 300 mL, 3 kom,
- bireta, 50 mL,
- vrelni kamenčki,
- hladilnik,
- termometer za destilacijo,
- spoji za destilacijo,
- kalota,
- plinski gorilnik,
- pribor za segrevanje,
- laboratorijsko stojalo,
- mufe,
- prižeme.

- KEMIKALIJE:

	R	S	E
natrijev hidroskid	35	(1/2)-26-37/39-45	2
žveplova (VI) kislina	23-36/37	(1/2)-7/9-45	16
etanol	11	(2)-7-16	1-10
parafinsko olje	/	/	/
bakrov sulfat (VI)	22	/	6
kalijev sulfat (VI)	31-36/37/38	7-22-24/25	1

Tabela 1: Seznam kemikalij

4.1.2. DOLOČITEV VLAGE

- INVENTAR:

- tehtiči 3 kom,
- eksikator,
- nož,
- deska,
- pinceta,
- sušilnik,
- analizna tehnicka.

4.2. **DELO**

KJEDAHLOVA METODA

Zatehtamo 1 – 1,5 g popolnoma homogenega vzorca v bučko z okroglim dnom. Dodamo 1 g bakrovega sulfata (VI), 10 g kalijevega sulfata (VI), 30 mL koncentrirane žveplove (VI) kislino in 2 porcelanasta koščka. Pri močnem penjenju dodamo nekaj kapljic parafinskega olja. Bučo segrevamo v digestoriju, na majhnem ognju, ki ga kasneje povečamo, dokler snov popolnoma ne zogleni in postane tekoča. Ob vretju segrevamo, dokler tekočina ni bistra in svetlo zelena, pri tem pa pazimo, da ne pride do izgub dušika zaradi sušenja vsebine v buči in na njenih stenah. V ohlajeno bučo dodamo 300 mL destilirane vode, 2 kapljici raztopine fenolftaleina, skozi lij postopno dodamo 33 % raztopino natrijevega hidroksida v prebitku glede na uporabljeno žveplovo (VI) kislino in košček parafina, ki preprečuje penjenje. Takoj spojimo s hladilnikom, premešamo in destiliramo. V predložko damo 25 – 50 mL 0,25M žveplove (VI) kislino in dve kapljici Tashirojevega indikatorja. Ko je destilacija končana, titriramo odvečno žveplovo kislino z 0,25 M raztopino natrijevega hidroksida z uporabo Tashirojevega indikatorja. Titracija je končana, ko se barva indikatorja spremeni iz zelene v intenzivno roza barvo.



Slika 5: Razklop mesa v žveplovi (VI) kislini.



Slika 6: Dokončan razklop.



Slika 7: Po končanem razklopu smo dodali NaOH.

DOLOČANJE VLAGE - SUŠENJE

Vzorce mesa smo zmleli oziroma narezali na izredno majhne koščke. V z etanolom oprane in posušene ter stehtane tehtiče zatehtamo okoli 5 g vzorca mesa. Tehtiče damo v sušilnik in ga vklopimo na 120 °C. Po štirih urah tehtiče zložimo v eksikator in počakamo, da se ohladijo. Nato jih stehtamo na analizni tehnicci. In nadaljujemo s sušenjem do konstantne mase.



Slika 8: Sušenje mesa v tehtičih v sušilniku.

PRIPRAVA RAZTOPIN**1. PRIPRAVA 33 % NATRIJEVEGA HIDROKSIDA**

V sterirano čašo zatehtamo potrebno maso natrijevega hidroksida, nato dodajamo destilirano vodo do skupne mase raztopine. S stekleno palčko mešamo, da se natrijev hidroksid raztopi. Pri tem pazimo, saj se raztopina močno segreje.

2. PRIPRAVA 0,25 M ŽVEPLOVE(VI) KISLINE

V merilno buško predhodno nalijemo nekaj destilirane vode. Nato z merilnim valjem odmerimo potreben volumen koncentrirane žveplove (VI) kisline in jo prenesemo v merilno bučko. Razredčimo do oznake.

3. PRIPRAVA 0,25 M NATRIJEVEGA HIDOKSIDA

V sterirano čašo zatehtamo potrebno maso natrijevega hidroksida. Z razapljanjem kvantitativno prenesemo v merilno bučko. Razredčimo do oznake.

4. PRIPRAVA TASHIROJEVEGA INDIKATORJA

Indikator pripravimo z mešanjem štirih delov 0,1% etanolne raztopine metilenskega rdečila in enega dela 0,1% etanolne raztopine metilenskega modrila. To dobro premešamo in hranimo v temni steklenici.

STANDARDIZACIJA NATRIJEVEGA HIDROKSIDA

Na analizni tehnici zatehtamo približno 1 g kalijevega hidrogenftalata in ga raztopimo v 50 mL destilirane vode. Dodamo 2 kapljici indikatorja fenolftaleina. V bireto nalijemo natrijev hidroksid in začnemo s titracijo. Določimo ekvivalentno točko s preskokom barve indikatorja v rahlo roza, odčitamo ekvivalentni volumen. To ponovimo tri krat. Iz danih podatkov izračunamo točno koncentracijo.

4.3. MERITVE IN RAČUN

4.3.1. KJEDAHLOVA METODA

	V (NaOH) [mL]	m (vzorca) [g]
svinjina	27,3	1,43
govedina	28,5	1,46
puran	28,4	1,42
sardela	47,25	1,53
zajec	31,6	1,37

Tabela 2: Poraba NaOH za titracijo in mase vzorcev.

V (NaOH, slepi preizkus) = 90, 6 mL

RAČUN

$$\% \text{ beljakovin} = \frac{0,5 \times (V_1 - V_2) \times c \times 0,7}{m} \times 6,25$$

LEGENDA:

V1 – volumen NaOH slepi preizkus [mL] = 90,6 mL

V2 – volumen porabe NaOH [mL]

c - točna koncentracija NaOH [mol/L]

m – masa vzorca [g]

6,25 – faktor za preračun beljakovin v mesu

PRIMER: (izračun beljakovin v vzorcu I svinjine)

$$\% \text{ beljakovin} = \frac{0,5 \times (90,6 - 27,3) \times 0,2448 \times 0,7}{1,43} \times 6,25 = 23,7 \%$$

4.3.2. DOLOČANJE VLAGE – SUŠENJE

	Tehtič₁	Tehtič₂	Tehtič₃	Meso₁	Meso₂	Meso₃	T₁+suho	T₂+suho	T₃+suho
svinjina	30,0740	29,3732	40,9759	4,0276	4,6450	3,8473	31,6139	31,2499	42,1874
govedina	29,6947	28,7340	40,9771	2,2616	1,7770	2,1864	30,2361	29,1905	41,5456
puran	40,9706	32,1046	29,3891	1,4915	1,5793	1,6693	41,3609	32,5299	31,0584
sardela	28,7381	40,9776	29,7004	1,2181	1,2395	0,9417	28,9720	41,2018	29,8890
zajec	26,3866	32,1098	40,9763	0,9001	0,7158	1,4900	26,6743	32,3813	42,4663

Tabela 3: Mase tehtiče in vzorcev pri določanju vlage.

LEGENDA: T – suh tehtič

OPOMBA: Vse enote v tabeli so v gramih.

RAČUN

$$m(\text{voda}) = m(\text{meso}) - (m(\text{tehtič} + \text{suh meso}) - m(\text{tehtič}))$$

$$w(\text{vlage}) = \frac{m(\text{voda})}{m(\text{vzorca})} \times 100\%$$

PRIMER: (določitev vlage v vzorcu 1 svinjine)

$$m(\text{H}_2\text{O}) = 4,0276\text{g} - (31,6139\text{g} - 30,0740\text{g}) = 2,4877\text{g}$$

$$w(\text{vlage}) = \frac{2,4877\text{g}}{4,0276\text{ g}} \times 100\% = 61,8\%$$

4.3.3. STANDARDIZACIJA NaOH

	1 pararelka	2 pararelka	3 pararelka
M (kalijevega hidrogenftalata) [g]	0,9565	0,9352	0,9060
V (NaOH) [mL]	19,10	18,75	18,10

Tabela 4: Meritve za standardizacijo NaOH.

RAČUN

$$c = \frac{1000 \times m(\text{k. hidrogenftalat})}{V(\text{NaOH}) \times M(\text{k. hidrogenftalat})}$$

PRIMER: (IZRAČUN TOČNE KONC. NaOH)

$$c = \frac{1000 \times 0,9565 \text{ g}}{19,10 \text{ L} \times 204,23 \text{ g/mol}} = 0,2452 \text{ mol/L}$$

4.4. REZULTATI

4.4.1. KJEDAHLOVA METODA

	w (beljakovin) [%]
svinjina	23,7
govedina	23,3
puran	23,5
sardela	15,2
zajec	23,1

Tabela 4: Masni deleži beljakovin.

4.4.2. SUŠENJE

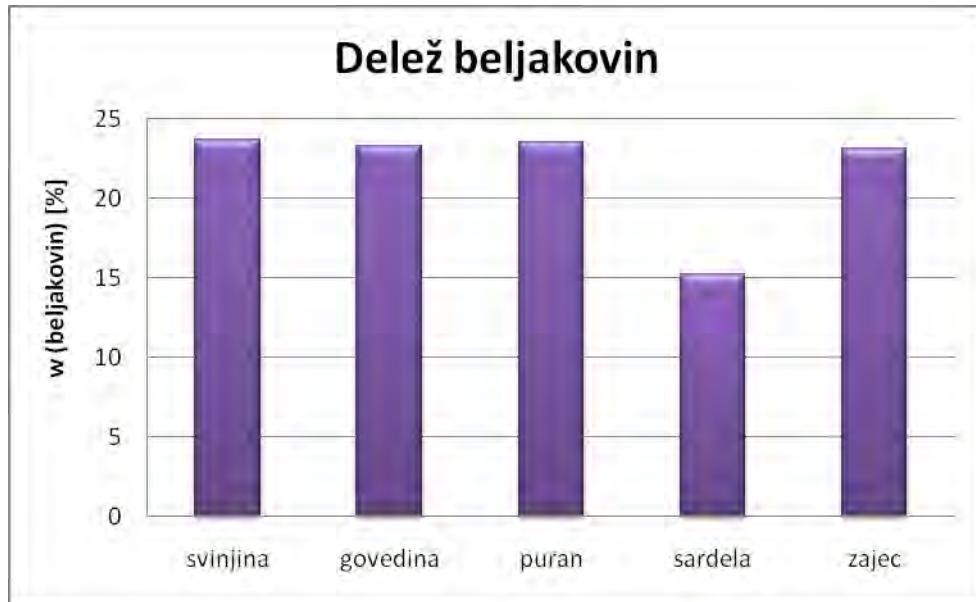
	$m(H_2O)_1[g]$	$m(H_2O)_2[g]$	$m(H_2O)_3[g]$	$w(H_2O)$ [%]	$w(H_2O)$ [%]	$w(H_2O)$ [%]	povpr. w [%]
svinjina	2,4877	2,7683	2,6358	61,8	59,6	68,5	63,3
govedina	1,7202	1,3205	1,6179	76,1	74,3	74,0	74,8
puran	1,1012	1,1540	1,2253	73,8	73,1	73,4	73,4
sardela	0,9842	1,0153	0,7531	80,8	83,4	80,0	81,4
zajec	0,6124	0,4443	0,9730	68,0	62,1	65,3	65,1

Tabela 5: Mase in masni deleži vode v vzorcih.

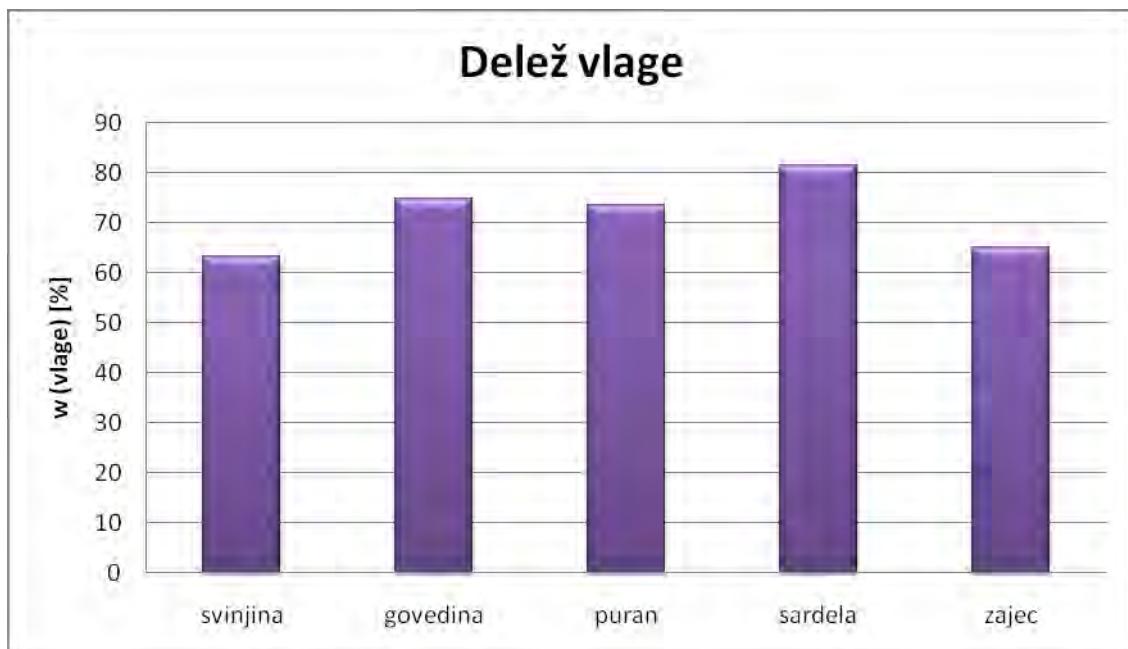
4.4.3. PRIMERJAVA DELEŽA BELJAKOVIN IN VLAGE

	w (beljakovin) [%]	w (H_2O)
svinjina	23,7	63,3
govedina	23,3	74,8
puran	23,5	73,4
sardela	15,2	81,4
zajec	23,1	65,1

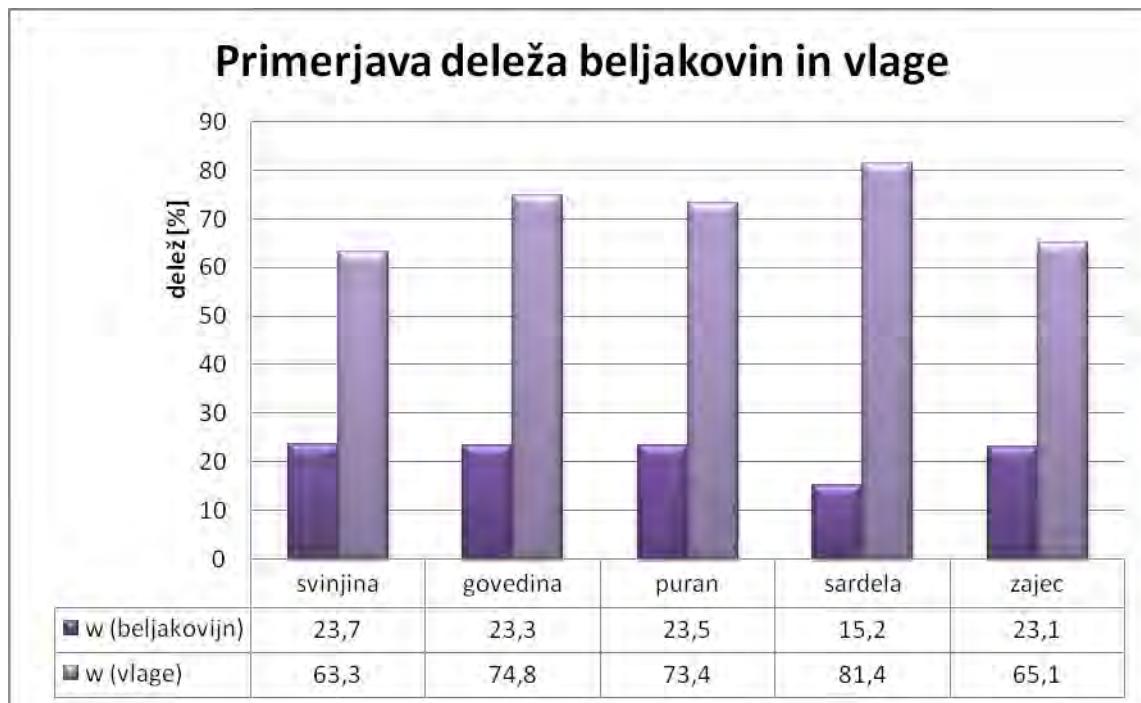
Tabela 6: Primerjava deleža beljakovin in vlage.



Graf 1: Delež beljakovin v vzorcih.



Graf 2: Delež vlage v vzorcih.



Graf 3: Primerjava deležev beljakovin in vlage v vzorcih.

4.4.4. STANDARDIZACIJA NaOH

$$c_1 = 0,2452 \text{ mol/L}$$

$$c_2 = 0,2442 \text{ mol/L}$$

$$c_3 = 0,2451 \text{ mol/L}$$

$$c (\text{povpr.}) = 0,2448 \text{ mol/L}$$

4.5. KOMENTAR REZULTATOV

Iz grafa je razvidno, da je največji delež beljakovin v svinjini in sicer 23,7 %. V puranjem mesu smo določili skoraj enako vrednost to je 23,5 %. Podobno vrednost imata tudi zajec (23,1 %) in govedina (23,3 %). Ribje meso vsebuje najmanj beljakovin in sicer samo 15,2 %.

Vsebnost vlage v mesu je bila zelo različna kljub temu, da so bili vsi vzorci sveži in ni bilo temperaturnih nihanj. Tako smo določili največji odstotek vlage 81,4 % v ribjem mesu, kar je verjetno posledica življenskega okolja. Svinjina je vsebovala najmanjši delež vlage in sicer 63,3 %. Razlika vsote deležev beljakovin in vlage do 100 % je v tem primeru večja od ostalih, kar je verjetno povezano s tem, da svinjina vsebuje veliko maščob. Nizek delež vlage ima tudi zajče meso, to je 65,1 %. Goveje in puranje meso sta po deležu vlage v sredini.

5. ZAKLJUČEK

Cilje naloge smo dosegli. Izbrali smo pet vrst mesa in sicer svinjino, govedino, puranje, ribje in zajčje meso. V vzorcih smo določali delež vlage s sušenjem v sušilniku in delež beljakovin po Kjedahlu. Dokazali smo, da se vsebnost beljakovin in deleža vlage v različnih vrstah mesa med seboj razlikuje. Delež beljakovin in vlage se premo sorazmerno spreminja. Tam kjer je bilo več vlage, je bil delež beljakovin nižji, kar najlažje opazimo pri vzorcu ribe.

Rezultati vsebnosti beljakovin različnih vzorcev so med seboj sicer primerljivi, ker smo uporabljali vedno isti postopek. Pri izgonu amoniaka in destilaciji je lahko prišlo do izgub.

V prehrani priporočamo najbolj puranje in zajčje meso, saj imata nizek delež maščob. Ribje meso je sicer zelo zdravo, ampak zaradi čedalje večje onesnaženosti morja se v njih nahajajo težke kovine. Svinjina vsebuje velik delež maščob, zato ni tako priporočljiva.

6. LITERATURA

1. Nežka Bajt, Simona Škarlavaj - Golec, Irena Štrumbelj - Drusanj, MESO IN MESNI IZDELKI, RIBE, JAJCA, Živilska tehnologija-vaje, 1996
2. Peter Karlson, BIOKEMIJA, 1980
3. Atkinson A., MODERN ORGANIC CHEMISTRY 3rd edition, 1986
4. Stanley H. Pine, ORGANSKA KEMIJA, 1994
5. Aleksandra Kornhauser, ORGANSKA KEMIJA III., 1996
6. P. W. Atkins, M. J. Frazer, M. J. Clugston, R. A. Y. Jones, KEMIJA ZAKONITOSTI IN UPORABE, 1995
7. Julius B. Cohen, PRACTICAL ORGANIC CHEMISTRY
8. Dr. D. Julian McClements, ANALYSIS OF PROTEINS