

Stanovení organických kyselin ve vejcích



Aplikační list č. 82

Mezi významné indikátory kvality, stáří a mikrobiální nezávadnosti vajec patří především organické kyseliny a to kyselina mléčná, jantarová a β -hydroxymáselná. Zvýšený obsah kyseliny jantarové a β -hydroxymáselné značí silnou mikrobiální kontaminaci. Kyselina β -hydroxymáselné také signalizuje, že se jedná o vejce oplodněné. Obsah těchto kyselin ve vejcích je omezen normou (mléčná 1 000 mg/kg vaječné sušiny, jantarová 25 mg/kg a β -hydroxymáselná 10 mg/kg) a je proto nutné hladiny těchto látek ve vejcích sledovat. Pomocí dvoukapilárového isotachoforetického analyzátoru (IONOSEP 2002 nebo 2004) je možné výše uvedené kyseliny stanovit v jedné analýze. Pro stanovení mléčné kyseliny je možné použít jednodimenzionální CITP-CITP (tzn. koncentrace vedoucího elektrolytu v předseparační a separační kapiláře je stejná), ovšem vzhledem k nízkým koncentracím kyseliny jantarové a β -hydroxymáselné je nutné použít dvoudimenzionální systém CITP-CITP, tedy metoda s použitím různých koncentrací vedoucích elektrolytů. Obsah mléčné kyseliny se určí ze záznamu předseparační kapiláry a obsah kyseliny jantarové a β -hydroxymáselné ze záznamu analytické kapiláry, která je naplněna zředěnějším vedoucím elektrolytem. Limit detekce je 1 μ mol kyseliny /l.

Úprava vzorku:

Skořápka vajec se oře 80% ním ethanolem. Po výtluhu se vaječný obsah zhomogenizuje a 5 g se odváží do 50 ml odměrné baňky. Organické kyseliny se extrahují asi 35 ml redestilované vody v ultrazvukové lázni po dobu 5 min. Záhřevem při 60 °C po dobu 30 min dojde k inaktivaci vlastního enzymového systému vejce a koagulaci vaječných bílkovin. Odměrná baňka se doplní po rysku vodou. Centrifugací (2000 ot./min, 20 minut) takto připravené suspenze se oddělí koagulované proteiny a lipidová frakce. Vodná fáze se po filtraci přes mikrofiltr dávkuje do analyzátoru.

Podmínky analýzy:

Vedoucí elektrolyt: 10 mM HCl + 20 mM β -alanin + 0,1% hydroxyethylcelulosa (předseparační kapilára)

5 mM HCl + 10 mM β -alanin + 0,1% hydroxyethylcelulosa (analytická kapilára)

Koncový elektrolyt: 5 mM kyselina kapronová

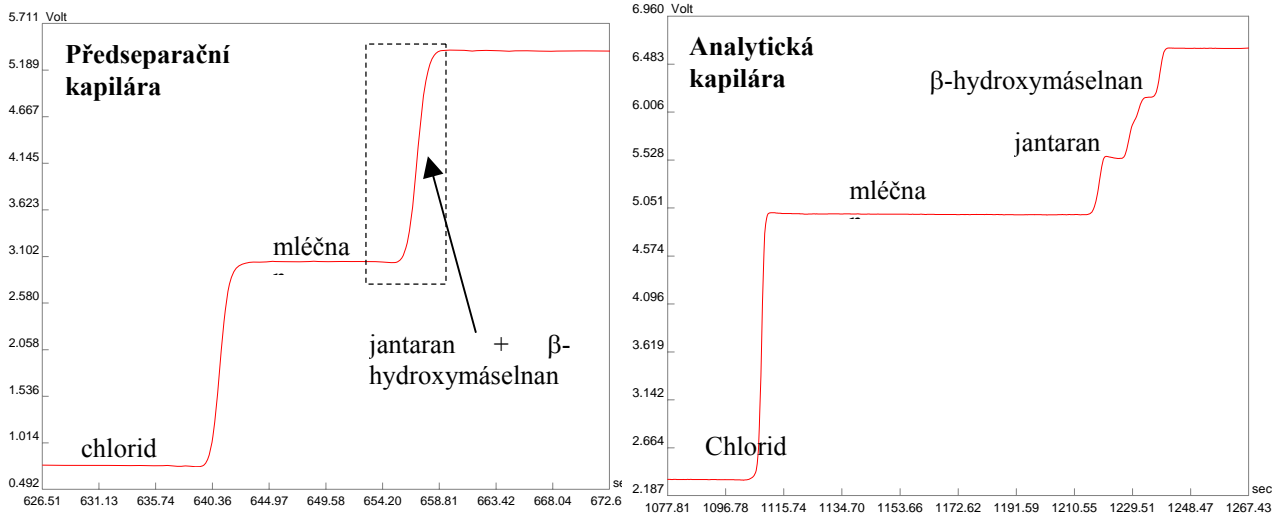
Hnací proud: předseparační kapilára 120 μ A, analytická kapilára 15 μ A, který je během detekce snížen na 5 μ A

Doba analýzy: 25 minut

Mód analýzy: anionický

Analýza modelové směsi kyselin (A) a vzorku vejce (B)

A – směs 0,2 mM mléčné + 0,005 mM jantarové a 0,002 mM β -hydroxymáselné; zóny uvnitř čárkovaného obdélníku jsou vpuštěny do analytické kapiláry



B – vzorek vejce (5 g/50 ml) + 0,01 mM jantarové a 0,005 mM β -hydroxymáselné; zóny uvnitř čárkovaného obdélníku jsou vpuštěny do analytické kapiláry

