

See discussions, stats, and author profiles for this publication at: <https://www.researchgate.net/publication/291342056>

Determination of proteins by FTIR in food and biotechnological products – part II

Article · September 2015

CITATIONS

0

READS

210

3 authors, including:



Marta Dudkiewicz

Lodz University of Technology

7 PUBLICATIONS 24 CITATIONS

[SEE PROFILE](#)



Dorota Kregiel

Lodz University of Technology

97 PUBLICATIONS 415 CITATIONS

[SEE PROFILE](#)

Some of the authors of this publication are also working on these related projects:



Antibacterial organosilanes [View project](#)



Yeast control agents [View project](#)

Oznaczanie białek metodą FTIR

w produktach spożywczych i biotechnologicznych – cz. II

Determination of proteins by FTIR in food and biotechnological products – part II

mgr inż. Marta Dudkiewicz, dr inż. Joanna Berłowska, dr hab. inż. Dorota Kręgiel

I INSTYTUT TECHNOLOGII FERMENTACJI I MIKROBIOLOGII, WYDZIAŁ BIOTECHNOLOGII I NAUK O ŻYWNOSCI, POLITECHNIKA ŁÓDZKA

STRESZCZENIE | Białka należą do najważniejszych składników produktów spożywczych i biotechnologicznych, dlatego też tak istotny jest dobór odpowiedniej metody ich oznaczania ilościowego. Artykuł przedstawia metodę FTIR oraz możliwości jej zastosowania w oznaczaniu białek w produktach spożywczych i biotechnologicznych. W pracy zaprezentowano także wyniki oznaczenia białek w wybranych produktach spożywczych i suplementach diety.

SŁOWA KLUCZOWE | oznaczanie białek, metoda FTIR, produkty spożywcze, biotechnologia

SUMMARY | Proteins are the most important constituents of food and biotechnology products, therefore the selection of appropriate methods of quantification is so important. This article presents the method of FT-IR spectroscopy and the possibilities of its application in determination of protein in foods and biotechnology. The paper also presents the results of determination of protein in selected foods and diet supplements.

KEYWORDS | determination of proteins, FTIR method, food products, biotechnology

Promieniowanie podczerwone zostało odkryte na początku XIX w. W 1800 r. Frederick William Herschel poszukiwał odpowiedzi na pytanie, który z kolorów światła widzialnego dostarcza ciepło. Zastosował on prymitywny sprzęt: szklany pryzmat i termometr owinięty w czarny papier, dzięki któremu mierzył zmiany temperatury wywoływane przez światło o danym kolorze. Z jego obserwacji wynikało, że termometr wskazywał najwyższą temperaturę, gdy był ustawiony tuż za czerwonym krańcem światła słonecznego. Odkrycie to Herschel opisał w pracy *Experiments on the refrangibility of the invisible rays of the Sun*. Dopiero w latach późniejszych zakres ten nazwano promieniowaniem podczerwonym [16].

■ PROMIENIOWANIE PODCZERWONE

Zakres promieniowania podczerwonego (IR) w widmie promieniowania elektromagnetycznego znajduje się pomiędzy promieniowaniem widzialnym a mikrofalowym. Analiza spektroskopowa polega na wizualnej obserwacji widma (atomowego, cząsteczkowego), spektrograficzna – na jego rejestracji na płycie fotograficznej, a spektrometryczna – na rejestracji fotoelektrycznej. Obecnie najczęściej stosuje się rejestrację fotoelektryczną, czego konsekwencją jest preferowanie terminu „spektrometria”.

Widmo absorpcyjne powstaje w wyniku pochłaniania przez daną substancję promieniowania o określonej długości fali z przechodzącego przez nią promieniowania o widmie ciągłym.

The infrared radiation was discovered at the turn of the 19th century. In 1800, Frederick William Herschel was trying to answer the question which colour of the visible light transfers heat. He used primitive equipment: a glass prism and a thermometer wrapped in black paper, which allowed him to measure changes in temperature caused by light of a given colour. His observations showed that the thermometer indicated the highest temperature when it was placed just beyond the red end of the solar light. Herschel described this discovery in his *Experiments on the refrangibility of the invisible rays of the Sun*. It was only later that this range was dubbed infrared radiation [16].

■ INFRARED RADIATION

The infrared radiation (IR) range lies in the electromagnetic radiation spectrum between the visible light and microwave radiation. Spectroscopic analysis relies on visual observation of the (atomic, particle) spectrum, spectrographic analysis – on its recording on a photographic plate, and spectrometric analysis – on a photoelectric recording. Currently it is photoelectric recording which is most commonly used, therefore the term „spectrometry” is preferred.

Absorption spectrum is a result of absorption by a given substance of radiation of a certain wavelength from the continuous spectrum radiation passing through it. Finding

Stwierdzenie występowania charakterystycznych linii (pasm) w widmie jest podstawą wykrywania (identyfikacji) pierwiastków lub związków chemicznych w badanej próbce (analiza jakościowa), a pomiar natężenia promieniowania o określonej długości fali pozwala oznaczyć skład ilościowy próbki (analiza ilościowa). Metody analizy wykorzystują m.in. zjawiska w zakresie promieniowania podczerwonego (0,76-1000 μm) [6]. Absorbancja promieniowania w zakresie podczerwieni opisywana jest przez prawo Lamberta-Beera, które określa stopień pochłaniania promieniowania w zależności od długości drogi, jaką pokonuje promieniowanie w badanym ośrodku, i stężenia molowego substancji pochłaniającej. Absorbancja [A] promieniowania jest wprost proporcjonalna do stężenia molowego substancji pochłaniającej [c] i drogi, jaką pokonuje promieniowanie w badanym ośrodku [l], więc przy założeniu stałości drogi, długości fali i współczynnika ekstynkcji możliwa jest analiza ilościowa badanej substancji, między innymi białek.

$$A = \alpha \cdot c \cdot l,$$

gdzie: $\alpha = 4\pi k/\lambda$; k - molowy współczynnik ekstynkcji (gęstość optyczna); λ - długość fali promieniowania.

Aby wykonać taką analizę, należy dokonać pomiarów absorbancji dla różnych znanych stężeń substancji badanej i stworzyć krzywą kalibracyjną [1].

W określaniu struktury związków organicznych największe zastosowanie ma zakres 4000-400 cm^{-1} (podczerwień podstawowa), a energia promieniowania z tego zakresu zawiera się pomiędzy 4,8-48,0 kJ. Zakres podstawowej podczerwieni można podzielić na kilka obszarów: obszar 1000-600 cm^{-1} , w którym występują drgania deformacyjne poza płaszczyznę wiązań C-H w związkach aromatycznych i alkylonowych; obszar 1000-1500 cm^{-1} wykorzystywany do analizy jakościowej, odpowiadające drganiom rozciągającym wiązań pojedynczych atomów o zbliżonych masach: C-C, C-N, a także drgania szkieletowe cząsteczek; obszar 2000-1500 cm^{-1} , w którym występują drgania rozciągające wiązań podwójnych: C=C, C=N; obszar 2500-2000 cm^{-1} , charakterystyczny dla drgań rozciągających wiązań potrójnych: C \equiv C, C \equiv N, a także obszar 4000-2500 cm^{-1} , odpowiadający drganiom rozciągającym wiązań pojedynczych pomiędzy atomami różniącymi się masą: C-H, O-H [15]. Wewnętrzna energia cząsteczek przybiera różne formy: energii rotacyjnej, która wynika z wirowania cząsteczek wokół własnej osi; energii oscylacyjnej, która związana jest z oscylacjami wokół położenia równowagi atomów cząsteczek, energii translacji związanej z nieuporządkowanym ruchem molekuł, a także energii elektronowej, na którą składa się energia kinetyczna ruchu elektronów w cząsteczce oraz energia potencjalna oddziaływań elektronów z sąsiednimi elektronami i jądrami. Pochłanianie przez cząsteczki promieniowania podczerwonego powoduje ich zmiany energii oscylacyjnej i rotacyjnej. W tym zakresie promieniowania kształt widm w przypadku cieczy i ciał stałych, gdzie rotacje cząsteczek są częściowo lub całkowicie hamowane przez międzycząsteczkowe oddziaływania, uzależniony jest od wzbudzeń oscylacyjnych. Natomiast widma cząstek w fazie gazowej, ze względu na swobodę zarówno rotacji, jak i oscylacji, mają charakter oscylacyjno-rotacyjny. Molekuły wieloatomowe mają złożony charakter drgań, są one przedstawiane jako superpozycje pewnej ilości drgań prostych o jednakowej częstotliwości i zgodnych w fazie (drgania normalne) [11].

characteristic lines in a spectrum is the basis for the detection (identification) of chemical elements or compounds in the examined sample (qualitative analysis), while measuring the intensity of radiation of a certain wavelength enables the determination of quantitative composition of the sample (quantitative analysis). Among other things, analytic methods make use of phenomena in the IR range (0.76-1000 μm) [6]. The absorbance of infrared radiation is described by the Beer-Lambert law, which relates the degree of the absorption of radiation to the length of the path travelled by the radiation in the studied medium and the molar concentration of the absorbent. Absorbance [A] of radiation is directly proportional to the molar concentration of the absorbent [c] and the path travelled by radiation in a given medium [l]. Therefore, the assumption of the path length, wavelength, and extinction coefficient as constant enables the quantitative analysis of examined substances, such as proteins.

$$A = \alpha \cdot c \cdot l,$$

where $\alpha = 4\pi k/\lambda$; k is the molar coefficient of extinction (optical density); λ is the length of radiation wave.

Carrying out such an analysis requires measuring absorbance values for various known concentrations of the examined substance and creating a calibration curve [1].

The range of 4000-400 cm^{-1} (basic infrared) is of greatest importance in determining the structure of organic compounds, and radiation energy in this range lies between 5.8 and 48.0 kJ. The basic infrared range can be divided into several areas: the 1000-600 cm^{-1} area, where deformation vibrations occur out of the plane of C-H bonds in aromatic and alkene/alkyne compounds; the 1500-1000 cm^{-1} area, used in qualitative analysis, corresponding to the stretching vibrations of single bonds between atoms of similar mass: C-C, C-N, and skeletal vibrations of a particle; the 2000-1500 cm^{-1} area, where the stretching vibrations of double bonds occur: C=C, C=N; the 2500-2000 cm^{-1} area, characteristic of the stretching vibrations of triple bonds: C \equiv C, C \equiv N; and the 4000-2500 cm^{-1} area, corresponding to the stretching vibrations of single bonds between atoms of different masses: C-H, O-H [15]. The internal energy of particles takes various forms: of rotational energy, resulting from the particles spinning around their own axes; oscillation energy, associated with the atoms in particles oscillating around balanced positions; translation energy, related to the disordered movement of molecules; and the electron energy, comprised of the kinetic energy of the movement of electrons in a particle and the potential energy of interactions between electrons and adjacent electrons and nuclei. The absorption of IR by particles causes the change of their oscillation and rotation energy. In this radiation range, the shape of spectra of liquids and solids, where the rotations of particles are partially or completely impeded by intermolecular forces, depends on oscillation excitations, whereas the spectra of gaseous phase particles, due to the freedom of both rotation and oscillation, are rotational-vibrational in nature. The vibrations of polyatomic molecules are complex in character, they are presented as superpositions of a certain number of simple vibrations of the same frequency and compatible phase (normal vibrations) [11].

► ■ SPEKTROMETRIA FTIR

Już od wczesnych lat czterdziestych XX wieku spektrometria w podczerwieni uważana była za pierwszą fizyczną technikę badawczą o niemal uniwersalnym zastosowaniu w identyfikacji budowy cząsteczkowej. Rozwój i zastosowanie spektrometrów z transformacją Fouriera (FTIR – *Fourier Transform Infrared Spectroscopy*) zrewolucjonizował pomiar widm w podczerwieni. Algorytm niezbędny do szybkiego przeliczenia transformacji Fouriera (zamiana otrzymanego widma z postaci intensywności w funkcji czasu do postaci intensywności w funkcji częstotliwości) był już dostępny w 1965 roku, jednak dopiero rozwój w dziedzinie komputeryzacji, możliwości cyfrowej obróbki danych oraz zastosowanie i miniaturyzacja lasera pozwoliły na szerokie wykorzystanie spektroskopii FTIR [2].

Spektrofotometry zbudowane są z trzech podstawowych części: źródła promieniowania, interferometru (najczęściej dwuwiązkowego, zaprojektowanego przez Michelsona w 1891 roku) i detektora. Źródło promieniowania podczerwonego kieruje pasmo fal na interferometr, tam promieniowanie pada na zwierciadło półprzepuszczalne, rozdzielające pasmo na dwie identyczne wiązki, z których jedna jest odbijana, a druga – transmitowana. Odbita wiązka dociera do nieruchomego zwierciadła, po czym zostaje zawrócona. Wiązka transmitowana kierowana jest na zwierciadło ruchome, które porusza się wzdłuż osi optycznej o dodatkowej odległości $x/2$ i po odbiciu wraca. W momencie rekombinacji obu wiązek różnica dróg optycznych wynosi x , co prowadzi do interferencji. Tak zmodulowana wiązka z interferometru trafia do celki pomiarowej zawierającej badaną substancję. Tam dochodzi do absorpcji promieniowania. Następnie osłabione promieniowanie rejestrowane jest za pomocą detektora. Sygnał analogowy mierzony w detektorze to natężenie promieniowania w funkcji różnicy dróg optycznych x . Sygnał ten nazywany jest interferogramem. Interferogram zamieniany jest na dane cyfrowe, które poddaje się obróbce matematycznej z użyciem algorytmu szybkiej transformaty Fouriera w celu otrzymania widma absorpcyjnego badanej próby. W tej metodzie konieczne jest wykonanie pomiaru tła, czyli wyznaczenie spektrum dla próby nie pochłaniającej promieniowania podczerwonego. Takie spektrum absorbancji stworzone z widma tła i widma próby może zostać poddane analizie jakościowej i ilościowej. Proces takiej analizy badanego spektrum polega na odwzorowaniu uzyskanego widma za pomocą widm referencyjnych z uwzględnieniem odpowiednich mnożników, które wyznaczają rzeczywiste stężenia określonych substancji chemicznych [14]. Spektrometry FTIR mają zdolność pomiaru słabych sygnałów, a zastosowanie zmian w konstrukcji lub wykorzystanie odpowiednich przystawek umożliwiają wykonanie pomiaru nie tylko bezpośrednio w świetle przechodzącym.

Używane aktualnie metody spektroskopowe oparte są na kilku technikach pomiaru: wewnętrznego odbicia (IRS – *internal reflection spectroscopy*), transmisyjnej (TS – *transmission spectroscopy*), emisyjnej (ES – *emission spectroscopy*), rozproszonego odbicia (DRS – *diffuse reflection spectroscopy*), zwierciadlanego odbicia (ERS – *external reflection spectroscopy*) oraz fotoakustycznej (PAS – *photoacoustic spectroscopy*) [2].

■ ANALIZA BIAŁEK

Dzięki możliwości identyfikowania grup funkcyjnych wielu związków oraz wiązań pomiędzy poszczególnymi atomami metoda spektroskopii w podczerwieni z transformacją Fouriera

■ FTIR SPECTROMETRY

Already from the early 1940s, infrared spectrometry was considered as the first physical research technique almost universally applicable in the identification of molecular structure. The development and application of Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR) revolutionised the measurement of infrared spectra. While the algorithm necessary for the fast calculation of Fourier transform (the transformation of the received spectrum from the form of intensity against time into intensity against frequency) was already available in 1965, it was only the development of computers and the capability for digital data processing and the use and miniaturisation of lasers that made the wide use of FTIR spectroscopy possible [2].

Spectrophotometers are composed of three basic parts: a source of radiation, an interferometer (usually a double-beam one, designed by Michelson in 1891), and a detector. The source of infrared radiation directs a band of waves at the interferometer, where the radiation falls on a semi-transparent mirror, dividing it into two identical beams, of which one is reflected and the other transmitted. The reflected beam reaches a static mirror and then is turned back. The transmitted beam is directed at a movable mirror, which moves along the $x/2$ long optic axis, and returns reflected. When both beams are recombined, the difference between optic paths equals x , which leads to interference. Such a modified beam from interferometer goes into the measurement cuvette containing the studied substance, where the radiation is absorbed. The attenuated radiation is subsequently recorded by the detector. The analogue signal measured in the detector is the radiation intensity against the difference in optical paths x and is known as interferogram. An interferogram is transformed into digital data, which are then mathematically processed with the fast Fourier transform algorithm in order to receive the absorption spectrum of a given sample. In this method, it is necessary to make a background measurement, or determine the spectrum for a sample that does not absorb infrared radiation. Such an absorbance spectrum composed of the background and sample spectra can be analysed qualitatively and quantitatively. The process of spectrum analysis involves the representation of the obtained spectrum using reference spectra and taking into account appropriate multipliers, which determine the actual concentrations of certain chemical substances [14]. FTIR spectrometers are able to measure weak signals and, by applying changes in their construction or using proper add-ons, make it possible to take measurements not only directly in the passing light.

The currently used spectroscopic methods are based on several measurement techniques: internal reflection spectroscopy (IRS), transmission spectroscopy (TS), emission spectroscopy (ES), diffuse reflection spectroscopy (DRS), external reflection spectroscopy (ERS), and photo-acoustic spectroscopy (PAS) [2].

■ ANALYSIS OF PROTEINS

Thanks to the capability to identify the functional groups in many compounds and the bonds between individual atoms, the Fourier transform infrared spectroscopy method is used as a universal tool to analyse samples of mixed constituency,

wykorzystywana jest jako uniwersalny przyrząd do analizy zróżnicowanych pod względem składu próbek, zawierających między innymi: estry, węglowodany, tłuszcze czy białka. Analiza FTIR charakteryzuje się wysoką czułością, szybkością, dokładnością i bezpieczeństwem stosowania [13]. Wykorzystywana była w analizie składu chemicznego między innymi: kamieni żółciowych [9], w analizie próbek krwi u pacjentów z niewydolnością nerek [3], diagnozowaniu raka piersi [4], stężenia glukozy, trójglicerydów, cholesterolu, albumin i całkowitego stężenia białka w osoczu krwi [7] czy wykrywania obecności hormonów płciowych [12]. Ponadto badano obecność białek i ich stężenie w takich produktach spożywczych, jak: mleko, masło czy ser [13].

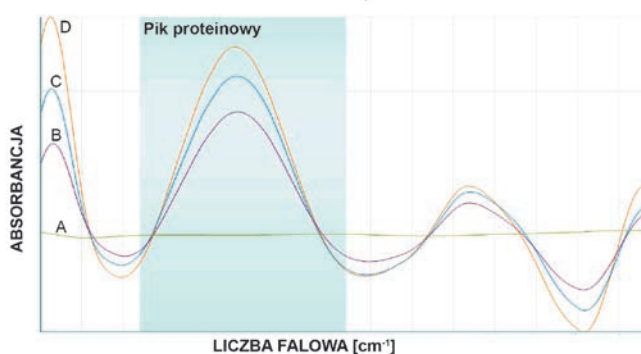
Spektroskopia FTIR pozwala na przeprowadzanie obserwacji struktury drugorzędowej białek oraz jej zmian wywołanych różnymi czynnikami zewnętrznymi. Wykorzystywana jest również w badaniach stabilności i agregacji białek, mechanizmów ich denaturacji (badania wpływu temperatury, pH i ciśnienia) oraz poznania molekularnych podstaw ich funkcjonowania. Białka mają pięć charakterystycznych obszarów, z których trzy mają największe znaczenie w analizie ich struktury drugorzędowej: pasmo amidowe I (drgania rozciągające wiązania C=O, około 1700-1600 cm⁻¹), pasmo amidowe II (drgania sprzężone zginające wiązania N-H i rozciągające wiązania C-N, około 1600-1500 cm⁻¹), pasmo amidowe III (drgania rozciągające wiązania C-N i drgania zginające wiązania N-H, około 1340-1200 cm⁻¹). Każda struktura drugorzędowa białka wykazuje charakterystyczną geometrię sieci wiązań wodorowych między atomami tlenu karbonyłowego łańcucha polipeptydowego a atomem wodoru grupy aminowej,

containing among other things esters, hydrocarbons, lipids, and proteins. The FTIR is characterised by high sensitivity, speed, accuracy, and safety of use [13]. It was used, among other things, to analyse the chemical composition of bile stones [9] and blood samples in patients with renal insufficiency [3], to diagnose breast cancer [4], to analyse the concentration of glucose, triglycerides, cholesterol, albumins, and total serum protein [7], or to detect the presence of sex hormones [12]. Moreover, the presence and concentration of proteins was studied in such food products as milk, butter, and cheese [13].

FTIR spectroscopy enables performing the observation of the secondary structure of proteins and its changes caused by various external factors. It is also used in the studies on the stability and aggregation of proteins, denaturing mechanisms (studies on the effect of temperature, pH, and pressure), and learning the molecular bases of their function. In proteins there are five characteristic regions, three of which are of utmost importance in the analysis of their secondary structure: amide 1 band (vibrations stretching the C=O bonds, about 1700-1600 cm⁻¹), amide 2 band (coupled vibrations bending the N-H bonds and stretching the C-N bonds, about 1600-1500 cm⁻¹), and amide 3 band (vibrations stretching the C-N bonds and vibrations bending the N-H bonds, about 1340-1200 cm⁻¹). Every secondary protein structure shows a characteristic geometry of a network of hydrogen bonds between the oxygen atoms of the carbonyl peptide chain and a hydrogen atom of the amino group, which produces the

PRODUKTY SPOŻYWCZE	
Nazwa produktu	Stężenie białka [mg/ml]
Sok z buraka ćwikłowego	2,866
Sok pomidorowy	1,547
Sok owocowo-warzywny	0,945
Sok warzywny	2,846
Mleko krowie 2%	4,677
Mleko krowie 3,5%	6,187
Mleko krowie 7,5%	7,316
Mleko kozie	4,346
PRODUKTY BIOTECHNOLOGICZNE	
Nazwa produktu	Stężenie białka [mg/ml]
Komercyjny roztwór enzymu I	13,570
Komercyjny roztwór enzymu II	11,168
Komercyjny roztwór enzymu III	2,341
Ekstrakt drożdżowy	8,509

Tab. 1. Przykład oznaczenia stężenia białka (Direct Detect®) w produktach spożywczych i biotechnologicznych (opracowanie własne)



Rys. 1. Przykład analizy ilościowej białek w produktach spożywczych metodą Direct Detect® (A – woda, B – mleko krowie 2%, C – mleko krowie 3,5%, D – mleko krowie 7,5%) (opracowanie własne)

co powoduje charakterystyczne dla tej struktury zakresy częstości drgań wiązań zaangażowanych w jej tworzenie [11].

Na określenie stężenia białek w analizowanej próbce pozwala system Direct Detect® firmy Merck. System ten oznacza liczbę wiązań amidowych w łańcuchach polipeptydowych, na podstawie której określane jest stężenie białek. Analizowana próba nanoszona jest bezpośrednio na hydrofilową membranę wykonaną z politetrafluoroetyleny (PTFE) [10]. Przykładowe pomiary stężenia białek w produktach spożywczych i biotechnologicznych przedstawiono w tab. 1 i na rys. 1.

Szybkość, czułość, prostota wykonania oraz możliwość wewnętrznej kalibracji urządzeń do spektroskopii w podczerwieni z transformacją Fouriera pozwalają na dokonywanie dokładnych i powtarzalnych pomiarów. Metody ilościowe mogą być łatwo rozwijane i kalibrowane, dzięki czemu istnieje możliwość włączenia ich do rutynowych procedur wykorzystywanych w analizie produktów spożywczych i biotechnologicznych. Metodą tą, poza białkami, można badać również inne składniki żywności, takie jak: tłuszcze, cukry, a także zanieczyszczenia żywności (niepożądane związki, bakterie chorobotwórcze) [8]. Przewagą metody FTIR nad innymi technikami jest również fakt, że możliwe jest uzyskanie widm dla białek w różnych środowiskach, a analiza wymaga mniej czasu, mniejszej ilości próbki. Pomiary można dokonać zarówno dla prób występujących w postaci cieczy, ciał stałych, jak i past. Powszechne stosowanie tej metody w analizie żywności może być ograniczone przez wysoki koszt spektroskopów IR oraz programów komputerowych, niezbędnych do analiz otrzymanych widm [5].

FOOD PRODUCTS	
Product name	Protein concentration [mg/ml]
Beetroot juice	2.866
Tomato juice	1.547
Fruit and vegetable juice	0.945
Vegetable juice	2.846
2% cow's milk	4.677
3.5% cow's milk	6.187
7.5% cow's milk	7.316
Goat's milk	4.346
BIOTECHNOLOGICAL PRODUCTS	
Product name	Protein concentration [mg/ml]
Commercial solution of enzyme I	13.570
Commercial solution of enzyme II	11.168
Commercial solution of enzyme III	2.341
Yeast extract	8.509

Tab. 1. An example of determining the protein concentration (Direct Detect®) in food and biotechnological products (own study)

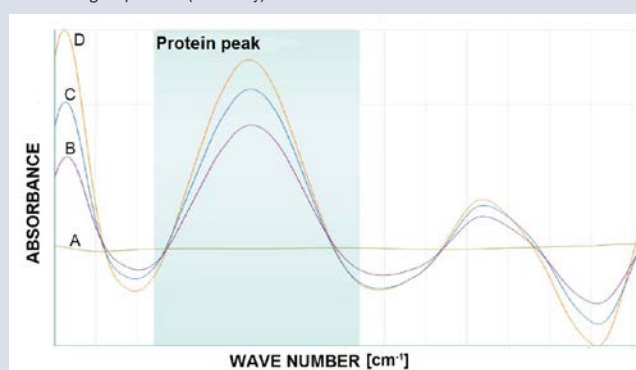


Fig. 1. An example of quantitative analysis of proteins in food products with the Direct Detect® method (A – water, B – 2% cow's milk, C – 3.5% cow's milk, D – 7.5% cow's milk) (own study)

frequency ranges of vibrations of the bonds involved in its creation [11].

The concentration of proteins in a sample can be determined with the Direct Detect® system by Merck. This system determines the number of amide bonds in polypeptide chains, on which the concentration of protein is based. The analysed sample is applied directly to the hydrophilic membrane made of polytetrafluoroethylene (PTFE) [10]. Examples of measured concentrations of proteins in food and biotechnological products are compiled in Table 1 and Fig. 1.

The speed, sensitivity, simplicity of making, and internal calibration capability of the Fourier transform infrared spectroscopy devices enable making precise and repeatable measurements. Quantitative methods can be easily developed and calibrated, which makes it possible to include them among routine procedures used in the analysis of food and biotechnological products. Apart from proteins, this method also allows the examination of other food ingredients, such as fats, sugars, and food contaminations (undesirable compounds, pathogenic bacteria) [8]. The FTIR method has also this advantage over other techniques that it is possible to obtain spectra for proteins in various environments, and the analysis requires less time and a smaller amount of the sample. The measurements can be taken for samples in the form of liquids, solids, and pastes. The widespread use of this method in food analysis may be limited by the high cost of IR spectrometers and computer programmes necessary for the analysis of the obtained spectra [5].

Piśmiennictwo/Bibliography

1. Prawo absorpcji promieniowania (*Prawo Bouguera-Lamberta-Beera*) [dostęp: 2015.07.27], <http://biofizyczny.pl/tag/prawo-lamberta-beera/>.
2. Dębczak A., Ryczkowski J.: *Spektroskopia IR w badaniach adsorbentów i katalizatorów*. „Nauka dla Gospodarki”, 2012, 2, 175-203.
3. Devi T.S.R., Gunasekaran S., Hudson J.W., Joybell I.S.A.: *Analysis on renal failure patients blood samples: characterization and efficacy study*. „Indian Journal of Science and Technology”, 2009, 2, 46-50.
4. Dimitrova M., Ivanova D., Karamenchewa I., Milev A., Dobrev I.: *Application of FTIR-spectroscopy for diagnosis of breast cancer tumors*. „Journal of the University of Chemical Technology and Metallurgy”, 2009, 44, 297-300.
5. Gruczyńska E., Faszczka E., Koczoń P., Kowalski B.: *Oznaczanie zawartości tłuszczu i wody w majonezach metodą spektroskopii w podczerwieni z Transformacją Fouriera*. „Żywność”, 2005, 2(43), 95-107.
6. Internetowa Encyklopedia PWN, [dostęp: 2015.07.27], <http://encyklopedia.pwn.pl/haslo/analiza-spektralna;3978107.html>.
7. Jessen T.E., Höskuldsson A.T., Bjerrum P.J., Verder H., Sørensen L., Bratholm P.S., Christensen B., Jensen L.S., Jensen M.A.B.: *Simultaneous determination of glucose, triglycerides, urea, cholesterol, albumin and total protein in human plasma by Fourier transform infrared spectroscopy: Direct clinical biochemistry without reagents*. „Clinical Biochemistry”, 2014, 47, 1306-1312.
8. Kamelska A.M., Pietrzak-Fiećko R., Bryl K.: *Analiza składu wybranych produktów mlekozastępczych dla niemowląt pod względem zawartości cholesterolu metodą FTIR-ATR*. [W:] *Jakość i prozdrowotne cechy żywności* (pod red. M. Wojtatowicz i J. Kawy-Rygielskiej), Wydawnictwo Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu, Wrocław 2010, 87-101.
9. Kleiner O., Ramesh J., Huleihel M., Cohen B., Kantarovich K., Levi C., Polyak B., Marks R.S., Mordechai J., Cohen Z., Mordechai S.: *A comparative study of gallstones from children and adults using FTIR spectroscopy and fluorescence microscopy*. „BMC Gastroenterology”, 2002, 2, 1-14.
10. Materials Merck: 2012. Direct System Detect®. Darmstadt.
11. Milewski S.: *Spektroskopia w podczerwieni w badaniu struktury biomakromolekuł*. Skrypt do ćwiczeń IMBSiAB, Katedra Technologii Leków i Biochemii, Politechnika Gdańska, [dostęp: 2015.07.27], http://pg.gda.pl/chem/Katedry/Leki_Biochemia/dydaktyka/instrumentalne_MBSiAB/cwicz_05.pdf.
12. Sjahfirdi L., Aziz S.N., Maheshwari H., Astuti P., Suyatna F.D.: *Estrus period determination of female rats (*Ratus norvegicus*) by Fourier Transform Infrared (FTIR) through identification of reproductive hormones metabolites in urine samples*. „International Journal of Basic and Applied Sciences”, 2011, 11, 158-163.
13. Sjahfirdi L., Nasikin M.: *Protein identification using Fourier transform infrared (FTIR)*. „IJRRAS”, 2012, 10, 418-421.
14. Skotnicki P., Kościanowski J.: *Wykorzystanie spektroskopii FTIR do pomiaru uwolnień do powietrza wybranych zanieczyszczeń z rekomendowanej listy PRTR dla przemysłu mineralnego*. „Prace Instytutu Ceramiki i Materiałów Budowlanych”, 2012, 9, 156-170.
15. Tarsa M.: *Spektroskopia w podczerwieni*, [dostęp: 2015.07.27], http://farmacja.cm-uj.krakow.pl/~mkz/skrypt_IR.pdf.
16. Wrośz P.: *Zastosowanie spektroskopii bliskiej podczerwieni i klasycznej podczerwieni w analizie jakościowej i ilościowej surowców w przemyśle farmaceutycznym i kosmetycznym*. Rozprawa doktorska, Politechnika Gdańska, Wydział Chemiczny, Katedra Technologii Leków i Biochemii, Gdańsk 2012, Rozdział I, Wprowadzenie, 7-8.