

Májás készítmények keményítő és glikogén tartalmának meghatározása

OJTÓZY KRISTÓFNÉ

Budapest Főváros Vegyészeti és Élelmiszervizsgáló Intézete

Érkezett: 1966. szeptember 5.

Előző közleményemben húskészítmények keményítőtartalmának meghatározására alkalmas módszerekkel foglalkoztam (1). Ebben a közleményben olyan húskészítmények keményítőtartalma kerül meghatározásra, amelyekben keményítő mellett glikogén is előfordul. Ilyen termékek pl. a májkrém konzervek.

A friss máj általában 2–8% glikogént tartalmaz. A glikogén fizikai és kémiai tulajdonságaiban nagyon hasonlít a keményítőhöz, éppen ezért a keményítő meghatározására alkalmas módszerek – glikogén jelenléte esetén – a glikogént is mérik.

A glikogénnek a keményítőtől eltérő tulajdonsága, hogy kb 18% töménységig hideg vízben jól oldódik, a keményítő viszont nem oldódik. Ezt a tulajdonságot használjuk fel a két komponens elválasztására.

Az irodalomból ismeretes keményítő elkülönítő módszer [Pelenske (2) szerint] nagyon körülményes és hosszadalmas, mert először *Mayrhofer*-eljárással meg kell határozni a keményítő és glikogén összes mennyiségét, majd a kapott keményítő és glikogén anyag egy részéből hidegvizes mosással kell a glikogént eltávolítani. A visszamaradt keményítőt kell szárítás után mérni és az eredeti anyagmennyiségre visszaszámítani.

A májaskészítmények keményítő és glikogén tartalmának elválasztására ill. glikogén meghatározására olyan eljárást dolgoztam ki, ami alig igényel több időt, mint az egyszerű keményítő meghatározás, a munkafolyamat mindössze egy vizes mosással és szűréssel bővül. A módszer pontossága a *Polenske*-féle eljáráshoz hasonló. Az eljárás egyformán alkalmazható a polariméteres keményítő meghatározási módszernél és az előző közleményemben ismertetett *Mayrhofer*-féle egyszerűsített keményítő meghatározási eljárásnál is (1).

1. Keményítő meghatározás glikogén mellett polariméteres eljárással

1.1 A módszer elve:

A kísérőanyagtól megszabadított keményítőt és glikogént hideg vízzel mossuk. A vizes mosás után a visszamaradt keményítőt szűrjük, sósavban feloldjuk. Az oldat forgatóképességét polariméterben mérjük. A fajlagos forgatóképesség ismeretében a keményítőtartalom kiszámítható.

1.2 A meghatározáshoz szükséges kémszerek:

Alkoholos káliumhidroxid oldat (80 g káliumhidroxidot 50 ml vízben oldunk, Feloldás és lehűtés után 96%-os alkohollal 1000 ml-re töltjük.)

50 %-os alkohol

25 %-os sósav

bázisos ólomacetát oldat. (100 g sárga olomoxidot (PbO) és 300 g ólomacetátot porcelán tálban kevés vízzel forró vízfürdőn addig melegítjük, amíg az egész tömeg fehér színű lesz, majd forró vízzel 100 ml-es mérőlombikba mossuk át. Lehűtés után jelleg töltjük és ülepitjük. (A derítéshez az oldat tisztáját használ-náljuk fel.)

Dinátriumhidrogénfoszfát szobahőmérsékleten telített oldata.
(30 – 35 g/100 ml)

1.3 A vizsgálandó anyag előkészítése

20 g finoman őrölt egyenlősített hűskészítményt 250 ml-es főzőpohárba mérünk 60 ml alkoholos kálilúgot adunk hozzá kis adagokban, közben gondosan elkerverjük úgy, hogy az anyag lehetőleg csomómentes legyen. A főzőpoharat óráveggel lefedjük és vízfürdőn lassú forrásban tartjuk addig, amíg a fehérje és a zsír fel nem oldódik (kb. 1 óra), közben egyszer-egyszer megkeverjük. Kihűlés és ülepités után dekantáljuk, majd kb. 50 ml 50%-os alkoholt öntünk rá, azután a csapadékot Schleicher-Schüll 597 sz. papíron szűrjük úgy, hogy a csapadék zöme lehetőleg a főzőpohárba maradjon. A főzőpohárba maradt csapadékhöz ismét 50%-os alkoholt adunk és újra szűrjük. Az alkoholos mosást addig ismét-eltjük, míg a lecsepegő mosófolyadék lúgmentes lesz.

Ezután a szűrőpapírra került anyagot legfeljebb 30 ml szobahőmérsékletű vízzel visszamoszuk a főzőpohárba, jól megkeverjük és kb. 10 percig állni hagyjuk, majd ismételt szűrjük, vízzel majd 50%-os alkoholal többször átmoszuk. A szűrőpapíron marad a tiszta keményítő. Ezt üvegbot segítségével kb. 60 ml 25%-os sósavval 100 ml-es Stiftlombikba mossuk. Ha nem sikerül a csapadékot a szűrőpapírról teljesen átmosni, a szűrőpapír csapadékos részét is bejuttatjuk a lombikba. Sósav hatására a csapadék hamar feloldódik (kb. 10 perc), az oldást a lombik rázogatásával elősegíthetjük. Ha a csapadék feloldódott, derítés céljából hozzáadunk 5 ml bázisos ólomacetát oldatot, majd 10 perc múlva 10 ml dinátriumhidrogénfoszfát oldatot. Ezután a lombikot 25%-os sósavval feltöltjük és szűrjük.

1.4 Meghatározás 1.5 Számítás

Előző közleményben ismertetett módon (1).

2. Glikogén-tartalom meghatározása polariméteres eljárással

2.1 A módszer elve

A kísérőanyagtól alkoholos kálilúggal megszabadított keményítő és glikogén csapadékat hidegvízzel mossuk, ezáltal a glikogén a vizes fázisba kerül. A szűrlet forгатókéességét mérjük. A fajlagos forгатókéesség ismeretében (megegyezik a keményítőével (3)) a glikogén tartalom kiszámítható.

2.2 A meghatározáshoz szükséges kémszerek

Az 1.2 alatt leírtakkal megegyezik.

2.3 A vizsgálandó anyag előkészítése

Az előkészítés az 1.3 szerint történik. A glikogén a szűrletben van. Ezt 100 ml-es normál lombikba fogjuk fel. A csapadékot desztillált vízzel addig mossuk, míg a lombik kb 2/3 részben megtelik, ezután derítés céljából hozzáadunk 5 ml bázisos ólomacetát oldatot, majd 10 perc múlva 10 ml dinátriumhidrogénfoszfát oldatot. Ezután a lombikot 25%-os sósavval feltöltjük és szűrjük.

2.4 Meghatározás

Előző közleményben ismertetett módon (1).

2.5 Számítás

$$G = \frac{100 \alpha}{L[\alpha]_{20}^D} = \frac{100}{s}$$

- G = glikogén tartalom %
 α = elforgatás szöge
 L = rétegvastagság
 $[\alpha]_{20}^D$ = a keményítő fajlagos forgatóképessége 20 C°-on a Na D vonalra vonatkoztatva = 199,3
 s = bemért anyagmennyiség

Példa

20 g bemérés esetén 200 mm-es polárcsövet használva az elforgatás szöge 0,88 ívfok.

$$\text{Glikogén tartalom \%} = \frac{100 \cdot 0,88}{2 \cdot 199,3} \cdot \frac{100}{20} = 1,1 \%$$

3. Keményítő meghatározás glikogén mellett súlyszerinti eljárással

3.1 A módszer elve

Alkoholos káliúggal kioldjuk a húskészítményekből a fehérjét és a zsirokat. A visszamaradt keményítőt és glikogént vízzel mossuk. A keményítő csapadékot szárítás után mérjük. A marékban levő ásványi anyagok meghatározása céljából az egészet elhamvasztjuk. A két mérési eredmény különbsége adja a keményítőt.

3.2 A meghatározáshoz szükséges kémszerek

Alkoholos káliumhidroxid oldat (80 g káliumhidroxidot 50 ml vízben oldunk. Feloldás és lehűtés után 96%-os alkohollal 1000 ml-re töltjük.)

- 50%-os alkohol
96%-os alkohol
éter p. a.

3.3 A vizsgálandó anyag előkészítése

Az előkészítés az 1.3 szerint történik, azzal a különbséggel, hogy a húskészítményből nem 20 hanem csak 10 g-ot mérünk be.

A vízzel kimosott csapadékot (tisztá keményítő) előre szárított és mért Schleicher-Schüll 597 sz. papíron szűrjük, először vízzel, majd 50%-os és 96%-os alkohollal, végül éterrel igen gondosan mossuk.

3.4 Meghatározás

Az előző közleményben ismertetett módon (1).

3.5 Számítás

Az előző közleményben ismertetett módon. (1).

4. Glikogén súlyszerinti meghatározása (közvetett eljárás)

4.1 A módszer elve

Meghatározzuk a glikogén és keményítő összes mennyiségét súlyszerinti eljárással (1) és egy másik bemérésből a glikogéntől vizes mosással megszabadított keményítőt szárítás után mérjük.

A két mérési adat különbsége adja a glikogéntartalmat.

(A hamuban található ásványi anyagok meghatározására egyik mérésnél sincs szükség, mert a két adat különbségét vesszük csak figyelembe.)

A keményítő és glikogén együttes mennyiségének meghatározása az előző közleményben ismertetett módon történik, azzal a különbséggel hogy a hamutartalmat nem kell meghatározni. A glikogénmentes keményítőtartalmat a 3. pontban ismertetettek alapján határozzuk meg. A hamu meghatározás itt is elmarad.

4.2 Számítás

A mért értéket 10-el szorozva kapjuk a glikogénmentes keményítőtartalom százalékos értékét; ha ezt kivonjuk a külön bemérésből meghatározott glikogén és keményítő összes mennyiségéből, megkapjuk a készítmény glikogéntartalmát.

$$G\% = (K + \bar{G}) - K$$

$$K = \text{keményítőtartalom } \%$$

$$\bar{G} = \text{glikogéntartalom } \%$$

5. Vizsgálati eredmények

A javasolt módszerek pontosságának az ellenőrzésére összehasonlító vizsgálatot végeztünk a Mayhofer-Polenske és az új módszerekkel. Sertésmájkrém konzervek glikogén és keményítő tartalmát vizsgáltuk, az eredményeket az alábbi táblázat mutatja:

Mayrhofer-Polenske szerint		Javasolt módszer					
		Polariméteres eljárás			Súlyszerinti meghat.		
Keményítő és glikogén %	Keményítő %	Keményítő és glikogén együtt %	Keményítő %	Glikogén %	Keményítő és glikogén együtt %	Keményítő %	Glikogén %
3,74	3,30	3,75	3,40	0,35	3,80	3,36	0,44
4,26	4,00	4,30	3,90	0,30	4,30	3,95	0,35
4,45	4,05	4,55	4,13	0,32	4,60	4,26	0,34
4,20	4,00	4,05	3,90	0,10	4,09	4,90	0,19
3,50	3,50	3,65	3,55	0	3,70	3,70	0

Bár a vizsgálatok jól egybehangzó eredményeket adtak, a módszer megbízhatóságának további ellenőrzésére modell kísérletet végeztünk. Májból, húsból, lisztből, sóból és vízből laboratóriumi méretekben májkrémet készítettünk, konzervdobozokba töltöttük, majd a Budapesti Konzervgyárban lezárattuk és sterilizáltuk. Előzőleg meghatároztuk a májnak a glikogén- és a lisztnek a keményítő tartalmát. A máj glikogén tartalmát polariméteres eljárással és indirekt úton számítással is meghatároztuk. A két fajta eredmény egymáshoz közelálló érték volt.

A modell mintáknak a keményítő és glikogén tartalmát is az előzőekben ismertetett módszerekkel és a Mayrhofer-Polenske módszerrel határoztuk meg. Az eredmények a következők: (1. táblázat).

1. táblázat

Bemért keményítő	Bemért glikogén	Mayrhofer-Polenske		Polariméteres elj.		Sulysz. elj.	
		keményítő %	glikogén %	keményítő %	glikogén %	keményítő %	glikogén %
4,15	1,30	4,19	0,45	4,10	0,50	4,20	0,45
5,50	1,30	5,50	0,60	5,58	0,52	5,55	0,40

Az eredmények meglepőek voltak, mert bár a három módszer összehasonlító vizsgálatai jó egyezést mutattak, a modell minták glikogén tartalma mélyen a várt érték alatt volt. Ez a megállapítás vezetett arra az elhatározásra, hogy a máj glikogéntartalmát behatóbban vizsgáljuk.

Friss és fagyasztott sertés- és marhamáj került vizsgálatra. Mindjárt az első kísérletekből megállapítottuk, hogy a fagyasztott sertés- és marhamáj glikogén tartalma minimális 0–0,2% között van, ezért a továbbiakban csak friss májjal volt érdemes foglalkozni. És hogy a vizsgálataink ne legyenek, túlságosan szerteágazók, csak sertésmájjal végeztünk kísérletet. Meghatároztuk a friss nyersmáj glikogéntartalmát 5 napon keresztül 24 órás időközökben (közben a májat hűtőszekrényben tartottuk). Ez alatt az idő alatt a glikogén tartalom nagymértékű csökkenését tapasztaltuk és a negyedik napon vagy teljesen eltűnt a glikogén, vagy minimális mennyiségben fordult csak elő. Mivel a glikogén bomlásakor feltehetően glükóz is keletkezik a glikogén vizsgálatokkal párhuzamosan glükóz meghatározást is végeztünk. Eredményeinket a 2. táblázat tartalmazza.

2. táblázat

Vizsgálati időszak	Nyersmáj 1.		Nyersmáj 2.		Nyersmáj 3.	
	glikogén %	glükóz %	glikogén %	glükóz %	glikogén %	glükóz %
1. nap	1,7	3,3	2,0	4,8	4,8	2,5
2. nap	0,7	3,8	0,9	3,5	2,0	3,2
3. nap	0,2	4,1	0,6	4,0	0,7	3,8
4. nap	∅	3,9	0,2	3,8	0,2	4,2
5. nap	∅	3,7	0,2	3,8	0,2	4,0

Az adatokból látható, hogy a glikogén gyorsan bomlik, ugyanakkor a glikogén egy részéből glükóz keletkezik. 3 napig a glükóz-szint emelkedés minden esetben megfigyelhető volt, a további időszakban lassú glükóz bomlás is észlelhető és ezzel egyidejűleg a máj romlása is bekövetkezik.

Hasonló jelenséget tapasztaltunk akkor is, ha a darált májat darált hússal összekevertük és néhány napig állni hagytuk. A különbség csak annyi volt, hogy itt a glikogén bomlás még intenzívebb, melyet a 3. táblázat szerinti kísérleti adatok bizonyítanak.

Vizsgálati időszak	Hús-máj keverék 1.		Hús-máj keverék 2.		Hús-máj keverék 3.	
	glikogén %	glükóz %	glikogén %	glükóz %	glikogén %	glükóz %
1. nap	1,6	4,0	1,4	3,5	1,2	4,4
2. nap	0,6	4,6	0,4	3,9	0,4	4,8
3. nap	0,2	4,8	0,2	4,0	0,2	5,0
4. nap	∅	4,5	∅	3,6	0,2	5,0

A glikogén bomlás bonyolult biokémiai folyamat, melyet különféle enzimek tevékenysége hoz létre, Straub szerint (4) a glikogénből a foszforiláz és a foszfatáz nevű enzim segítségével glükóz keletkezik. Ezek az enzimek mind a májszövetben, mind az izomszövetben előfordulnak, így a kísérleteinkben tapasztalt glikogén bomlást és ezzel egyidejű glükóz tartalom emelkedést magyarázzák.

Érthetővé válik az is, hogy a modell kísérleteinkben eredetileg meghatározott glikogén tartalom miért csökkent le olyan nagy mértékben: ugyanis a nyersmáj glikogén tartalmának vizsgálata és a belőle készült májkrém massa sterilizése között 48 óra telt el. Ez az idő elégséges ahhoz, hogy a glikogénnek nagyrésze eltűnjék a termékéből. Magyarazatot kapunk arra nézve is, hogy a májkrém konzervek miért tartalmazznak olyan minimális mennyiségű glikogént, hiszen a termékek zöme fagyasztott májból készült, de ha friss májat használnak is fel, a feldolgozási idő alatt a glikogén zöme lebomlik. Ennek a tapasztalatnak gyakorlati jelentősége is van, mert az üzemi laboratóriumokban történő minőségellenőrzéshez az egyszerű keményítőmeghatározás is elégséges, a glikogéntartalom vizsgálat a kis mennyiségek miatt elhanyagolható. Keményítő-glikogén elválasztó vizsgálatra legfeljebb abban az esetben van szükség, ha a mért keményítő és glikogén tartalom a szabványban engedélyezett keményítő tartalomnál nagyobb.

I R O D A L O M

- (1) Ojtózy E.: ÉVIKE 12, 76, 1966.
- (2) Beythien A., Diemeier W.: Laboratoriumsbuch für den Lebensmittelchemiker, Dresden (1963).
- (3) Böhmer A., Juckenack A.: Handbuch der Lebensmittelchemie, Berlin, (1936).
- (4) Straub F. B.: Biokémia, Budapest (1958).

ОПРЕДЕЛЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ КРАХМАЛА И ГЛИКОГЕНА ЛИВЕРНЫХ ИЗДЕЛИЙ

Э. Ойтосу

Автор разработал поляриметрический и гравиметрический метод для разделения крахмала и гликогена, а также для определения содержания гликогена. Оба метода относительно быстро исполнимы. Автор определил, что содержание гликогена в ливерных изделиях на столько мало, что при лабораторных контрольных испытаниях не проводил определение гликогена.

BESTIMMUNG DES STÄRKE- UND GLYKOGENGEHALTES VON LEBERPRÄPARATEN

E. Ojtózy

Verfasserin arbeitete eine polarimetrische und eine gravimetrische Methode zur Trennung von Stärke- und Glykogen, bzw. Bestimmung des Glykogengehaltes aus. Beide Verfahren sind verhältnismässig rasch durchführbar.

Es wurde auch festgestellt, dass der Glykogengehalt der Leberpräparate so gering ist, dass bei Kontrollprüfungen im Laboratorium von der Glykogenbestimmung Abstand genommen werden kann.

DETERMINATION OF THE CONTENT OF STARCH AND GLYCOGEN IN SAUSAGES CONTAINING LIVER

E. Ojtózy,

A polarimetric and a gravimetric method was evolved by the author for the separation of starch from glycogen, and, respectively, for the determination of the glycogen content. Both methods can be carried out relatively quickly.

Further, it was proved as well that the glycogen content of sausages containing liver is generally so low that the determination of glycogen can be omitted in laboratory control tests.

DOSAGE DE LA TENEUR EN AMIDON ET EN GLYCOGÈNE DES PRÉPARATIONS DE FOIE

E. Ojtózy

L'auteur a élaboré une méthode polarimétrique et gravimétrique pour la séparation de l'amidon et de la glycogène et respectivement, pour le dosage de la glycogène. Les deux méthodes sont d'une execution relativement rapide. Elle a aussi établi que la teneur en glycogène des préparations de foie est tellement petite que l'on peut se passer du dosage de la glycogène lors des examinations de contrôle au laboratoire.

CHANDAN R. C., SHAHANI K. M.
és HOLLY R. G.:

Az anyatej lizozimtartalma

(*Lysozyme content of human milk*).

Nature (Lond.) 204, 76, 1964.

105 anyatej-, illetve 12 anyafőcsetejminta átlagos lizozimtartalma 39, illetve 46 mg/100 ml volt, és így kb. háromszor nagyobb mint amilyent régebbi vizsgálatok folyamán tehéntej esetében találtak. A tehéntej lizozimtartalma sem különbözött a tehénfőcstejétől. Anyatej lizozimaktivitá-

sát legjobban fagyasztás útján lehetett megállapítani; 30 C°-ig terjedő hőmérsékletek mellett ellentétben a tehéntejel, amelynél a lizozim már 8 óra után inaktíválódott, 3–4 napon át, illetve az anyatej megromlásáig említésreméltó aktivitásvesztés nem állt elő. A lizozim hőállósága alacsony pH-értékek mellett nagyobb volt, teljes aktivitásvesztés a pH-nak 9-re beállításakor állt elő. A tehén- és az anyatej lizozimtartalmára és -aktivitására vonatkozó különbségeket szerzők az anyatej kisebb baktériumtartalmára vezetik vissza.

Kieselbach Gy. (Budapest)