

## Gyors módszer antioxidánsok hatékonyságának mérésére

ÖRSI FERENC és HRUBINÉ HOLLÓS KATALIN  
Műszaki Egyetem, Biokémiai és Élelmiszertechnológiai Tanszék, Budapest

Érkezett: 1977. június 28.

Az élelmiszerek és takarmányok gyártásánál felhasznált fontos adalékanyagok az antioxidánsok, amelyek a zsírok és olajok autooxidációja ellen nyújtanak védelmet.

Adott antioxidáns hatékonyságát számos tényező befolyásolja és olyan antioxidánssal, amely minden termékben és minden körülmények között egyformán hatékony lenne, nem rendelkezünk.

Új antioxidánsok hatékonyságának vizsgálatára számos eljárást dolgoztak ki (Lundberg 1), amelyek közül a leggyakrabban alkalmazott a termosztát módszer. Utóbbinál az antioxidánst tartalmazó zsíradékot a felhasználás, vagy tárolás hőmérsékletén vékony rétegben nagy felülettel tárolnak és az antioxidáns hatékonyságára a peroxidszám alakulásából következtetnek.

A vizsgálati idő rövidítésére számos eljárást dolgoztak ki, amelyek közül a leggyakrabban az aktív oxigén módszert alkalmazzák. Ennél az eljárásnál az oxidáció meggyorsítására a 98 °C-ra melegített zsíron levegőt buborékoltatnak át (AOAC, 2).

Számos eljárást dolgoztak ki az oxigénfelvétel közvetlen mérésére is (oxigén bomba módszer és Wartburg eljárás.)

Több gyors módszert dolgoztak ki  $\beta$ -karotin szubsztrát felhasználásával, amelyek elbomlása fotometriásan 465 nm-en mért fényelnyelés segítségével követhető (Marco, 3). Hamilton és Tappel, (4) a metil linolát vizes emulziójában a peroxidképzést hemoglobinnal gyorsították meg és a reakció sebességét polarográfiásan mérték.

Cort (5), majd Berner (6) a módszert módosította. Szubsztrátként desztillációval tokoferolmentesített napraforgóolaj szuszpenziót alkalmazott és a peroxid képződést az oldatban oldott oxigén eltűnésével, BECKMAN gyártmányú oxigénelektrod felhasználásával mérte. Így olyan egyszerű és gyors módszert dolgozott ki, amellyel egy antioxidáns vagy szinergens hatékonysága 5–10 perc alatt meghatározható.

Vizsgálataink során Cort eljárását hazai gyártmányú oxigénelektrod alkalmazásával valósítottuk meg, szubsztrátként pedig kereskedelembe állandó minőségben kapható trioleátot alkalmaztunk.

### KÍSÉRLETI RÉSZ

#### *Felhasznált anyagok*

Szubsztrátként Reanal gyártmányú t. trioleátot használtunk. Az emulzió készítéséhez BDH Chemicals Ltd. England gyártmányú Brij 35-t (polioxietilén-lauril éter) használtunk.

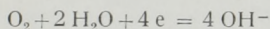
Az oxidációt katalizáló hemoglobin Reanal gyártmányú a.t. lóvérhemoglobinnal volt.

#### *Az alkalmazott antioxidánsok*

Material KTSz gyártmányú XAX és XAX-M,  
Reanal gyártmányú BHT (3,5-ditercier-butill 4-hidroxi toluol)  
Reanal gyártmányú propilgallát  
Reanal gyártmányú alt. aszkorbinsav  
Fluka A. G. gyártmányú alfa-tokoferol.

#### *Oldott oxigén mérő berendezés*

Az oldott oxigén koncentrációjának mérésére RADELKIS Szövetkezet OH-501 típusú hordozható oldott oxigén, pH és hőmérsékletmérő készüléket alkalmaztunk. Az érzékelő amperometriás elven működik és semmiféle áramforrásra nincs szükség. A mérendő oxigén elektromos áramot termel, amelynek erőssége arányos az oxigén parciális nyomásával. Az áramtermelő reakció sémája a következő:



Az érzékelő anódja cink, amelynek elektrolitikus oldódása szolgáltatja a fenti reakcióban szereplő elektronokat. Az ezüst katódon kialakuló diffúziós áram a kimenő villamos jel. Az érzékelő cellát a minta felé az oxigént átteresztő műanyag membrán zárja el, így a mérést a minta szennyezései nem zavarják.

Működés közben az oxigén-érzékelő a közvetlen környezetében levő oldatból a fentiekben megadott reakció egyenlet szerint lassan fogyasztja az oldott oxigént ezért annak pótlásáról az oldat keverésével kell gondoskodni.

A műszer skáláját levegővel telített, illetve  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ -el oxigénmentesített vízzel kalibráltuk.

A mérési elrendezést az 1. ábrán mutatjuk be.

#### *Trioleát emulzió készítése*

10 cm<sup>3</sup> glicerintrioleátot és 90 cm<sup>3</sup> vizet, valamint 1 cm<sup>3</sup> 30 súly%-os vizes Brij oldatot mértünk a Labor MIM gyártmányú Biomix homogenizáló berendezés edényébe és 15 percig mixelve állítottuk elő a vízben olaj emulziót. Minden méréshez friss emulziót készítettünk.

#### *Oxigénfogyasztás mérése*

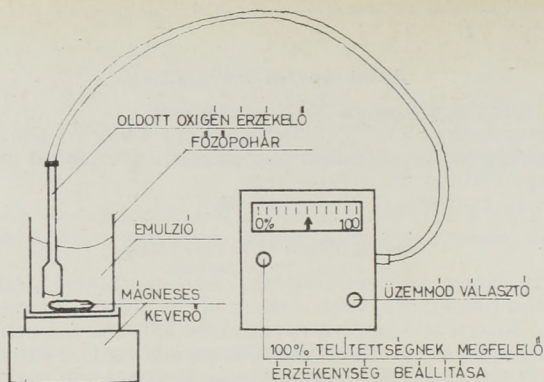
Az elkészült 100 cm<sup>3</sup> emulziót magas 200 cm<sup>3</sup>-es főzőpohárba töltöttük és mágneses keverőre helyeztük, amellyel olyan keverési intenzitást állítottunk be, hogy levegőt ne keverjen az oldathoz, de azt intenzív mozgásban tartsa.

Belemerítettük az oxigénérzékelő cellát, és megvártuk, amíg a mutató állandó értéket, a 100%-os telítettséget mutatta. Ekkor az oldathoz 5 cm<sup>3</sup> 136 mg/100 cm<sup>3</sup> koncentrációjú hemoglobin oldatot adtunk. A hemoglobint desztillált vízben oldottuk fel, és az így kapott oldat 1 hétig hűtőszekrényben eltartható. Az oxigén telítettséget 1/2 percenként olvastuk le a műszerről. Antioxidáns távollétében az oxigén 30%-a 3 perc alatt fogyott el az oldatból.

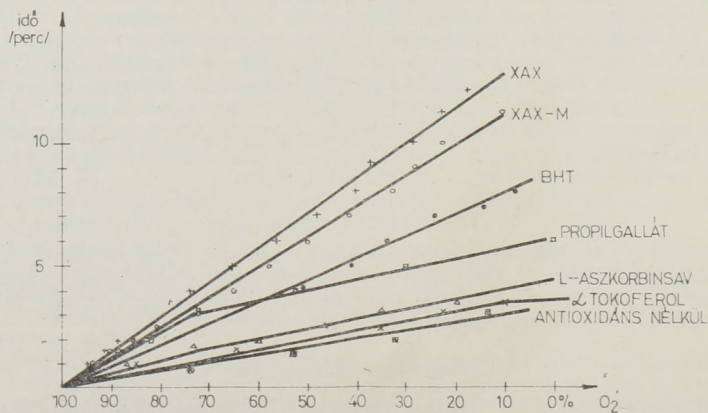
Az antioxidáns jelenléte az oxigén fogyását lassítja. Az antioxidáns alkoholos oldat formájában 1 mg/cm<sup>3</sup> koncentrációban alkalmaztuk. Kivételesen az aszkorbinsav képezett, ezt vízben oldottuk.

Az antioxidánsot a hemoglobin adagolás előtt adtuk az emulzióhoz. Minden antioxidánsból 0,5 cm<sup>3</sup>-t adagoltunk.

A méréseket 23–25 °C hőmérsékleten végeztük.



1. ábra  
Az oldott oxigén meghatározás mérési elrendezése



2. ábra  
Az oldott oxigén mennyiségének alakulása antioxidáns nélkül és különböző antioxidáns jelenlétében

## EREDMÉNYEK

A vizsgált antioxidánsok jelenlétében megfigyelt oxigénfogyásokat, valamint azok távollétében tapasztalt oxigénfogyás időfüggését a 2. ábrán mutatjuk be. Jól látható, hogy a vizsgált antioxidánsok széles tartományban gátolták az oxigénfogyást. Legnagyobb hatással az XAX antioxidáns volt.

Az alkalmazott antioxidáns koncentráció 0,005% a glicerintrioleátra vonatkoztatva. Nagyobb koncentráció alkalmazása a mérési időt tanulságosan megnövelheti.

Az antioxidánsok összehasonlítása az 50% oxigéntelítettség elérésének idejével jellemezhető megbízhatóan. A görbék meredeksége nem megfelelő, mivel némely esetben görbülés figyelhető meg.

A vizsgált antioxidánsok 50%-os telítés elérése idejét, valamint BHT-re vonatkozó antioxidáns indexeket az 1. táblázatban foglaltuk össze.

1. táblázat

Antioxidáns indexek

Antioxidáns	50% telítés elérési ideje perc	Antioxidáns index BHT (50%)
XAX .....	7,05	191,0
XAX-M .....	6,25	162,5
BHT .....	4,50	100
Propilgallát .....	4,00	84,0
C-vitamin .....	2,35	23,2
$\alpha$ -Tokoferol .....	1,95	8,9
Antioxidáns nélkül .....	1,70	0

Az antioxidáns indexet a következő képlettel számítottuk:

$$A_{I_{BHT/50\%}} = \frac{t - t_0}{t_{BHT} - t_0}$$

ahol:

$A_{I_{BHT/50\%}}$  = a BHT-re és 50% telítettség elérésére vonatkozó antioxidáns index

$t$  = a vizsgált antioxidáns 50%-os oxigéntelítettség elérési ideje

$t_0$  = az 50%-os telítettség elérési ideje antioxidáns nélkül

$t_{BHT}$  = az 50%-os telítettség elérési ideje BHT antioxidáns alkalmazása esetén.

Az eredmények, ha nem is pontosan, de nagyságrendileg egyeznek az aktív oxigén módszerrel kapott eredményekkel. A módszer tehát igen alkalmas antioxidánsok gyártásközi, vagy végertermékellenőrzésre, illetve antioxidáns hatású vegyületek kutatásában.

A módszer reprodukálhatósága jónak mondható. Az XAX antioxidáns esetén 10 párhuzamos mérésből számított antioxidáns index variációs koefficiense 5,43%. A különböző napokon mért antioxidáns indexek a  $t$  próba alapján nem tértek el szignifikánsan.

#### I R O D A L O M

- (1) Lundberg, W. O.: "Antioxidants and Autoxidation" 1. 2. kötet. Interscience kiadó: New York, 1962.
- (2) OFFICIAL METHODS OF ANALYSIS. 445 o. (1970).
- (3) Marco, G.: J. Am. Oil Chem. Soc. 45, 594, 1968.
- (4) Hamilton, J. W. - Tappel, A. L.: J. Am. Oil Chem. Soc. 40, 52, 1963.
- (5) Cort, W. M. Food Technol. 60, 1974.
- (6) Berner, D. L. - Conte, J. A. - Jacobson, G. A.: J. Am. Oil Chem. Soc. 51, 292, 1974.

## БЫСТРЫЙ МЕТОД ДЛЯ ИЗМЕРЕНИЯ ЭФФЕКТИВНОСТИ АНТИОКСИДАНТОВ

*Ф. Ёрши и Хрубинэ К. Холлош*

Авторы измерение эффективности антиоксиданта по методу CORT-а основывающегося на определении кислорода в реакции пероксидазы катализированной гемоглобином, проводили с применением венгерского прибора по измерению растворенного кислорода. В качестве субстрата применяя триолеат авторам удалось сравнить эффективность нескольких антиоксидантов. Применением времени для достижения 50%-насыщенности кислорода, индекс отнесенный на «БХТ» являлся хорошим числом измерения эффективность антиоксидантов.

## QUICK METHOD FOR THE MEASUREMENT OF THE EFFECTIVENESS OF ANTIOXIDANTS

*F. Örsi and K. Hrubí – Hollós*

The method for the measurement of the effectiveness of antioxidants developed by Cort and based on the determination of oxygen consumed in a peroxidase reaction catalysed by hemoglobin was carried out by the authors with the use of an equipment which measured the amount of dissolved oxygen. On applying trioleate as substrate, the effectiveness of several antioxidants was compared with each other.

The index of the time required to attain a 50% saturation with oxygen referred to that of BHT proved to be a reliable indicator of the effectiveness of antioxidants.

## SCHNELLE METHODE ZUR MESSUNG DER WIRKSAMKEIT VON ANTIOXIDANTEN

*F. Örsi und K. Hrubí – Hollós*

Die von Cort entwickelte, auf der Bestimmung des in der durch Hämoglobin katalysierten Peroxidasereaktion verbrauchten Sauerstoffes fussende Methode zur untersuchung der Wirksamkeit eines Antioxidans wurde mittels einer Einrichtung ungarischer Erzeugung zur Messung des gelösten Sauerstoffes durchgeführt. Unter Anwendung von Trioleat als Substrat wurde die Wirksamkeiten mehrerer Antioxidanten miteinander verglichen.

Die unter Verwendung der zum Erreichen einer 50%iger Sauerstoffsättigung benötigten Zeit auf BHT bezogene Indexziffer ist eine gute Messzahl der Wirksamkeit der Antioxidante.