

Manometriás módszerek jelentősége az élelmiszeranalitikában*

TELEGDY KOVÁTS LÁSZLÓ

Budapesti Műszaki Egyetem Élelmiszerkémiai Tanszék

Érkezett: 1957. április 27.

Gázfejlődéssel vagy elnyeléssel kapcsolatos reakciók tanulmányozására legcélszerűbben az ún. manometriás módszerek használhatók fel. A vizsgálat tárgyává tett reakciót oly zárt edényben játszátjuk le, melyhez folyadékzárás manométercső kapcsolódik, miáltal az edénybe zárt gáz mennyiségének változása jól követhető. A sejtlélegzés folyamán felhasznált oxigén és termelt CO_2 mennyiségének meghatározása a sejtlélegzés mechanizmusának tisztázása szempontjából alapvető fontosságú, s ezért a manometriás módszereket legelőször csaknem kizárólag erre a célra használták fel. Az alkalmazott elv azonban — mint arra *Dixon* könyvében már régebben rámutatott — egyéb célkitűzéseket is szolgálhat: így savanyú vagy alkálikus vegyületek keletkezésével, illetőleg eltűnésével járó folyamatok is manometriásan ellenőrizhetők oly bikarbonát pufferekben, amelyek a CO_2 -t tartalmazó gázkeverékkel egyensúlyban vannak. Ebben az esetben u. i. pl. a keletkező sav megfelelő mennyiségű CO_2 -t fog felszabadítani, amely manometriásan meghatározható. Sok hidrolites reakció tanulmányozására nyílik így lehetőség.

A módszer kivitelezésében alkalmazott manométerek három csoportba sorolhatók. Az első csoportra jellemző, hogy a gázt állandó nyomáson igyekszünk tartani és a térfogatváltozást olvassuk le. Ezen az elven szerkesztett eszközök a *Haldane* készülék és *Winterstein* mikrorespirátora. A második csoportba tartozó műszereknél a reakcióedényhez oly U alakú manométer kapcsolódik, amelynek egyik vége nyitott. A reakció állandó térfogat biztosításával játszódik le és a gázmennyiség változá-

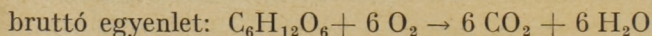
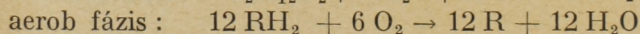
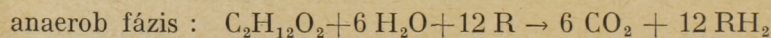
* Részlet a pekingi műszerkiállításon 1956. október 18-án elhangzott előadásból. (Szerk.)

sára a nyomásváltozásból következtetünk. Ilyen elven működik a Warburg készülék. Végül a harmadik csoportba tartozó eszközökben mind a nyomás, mind a térfogat egyidőben változik. Ily mérésekre alkalmas műszer *Barcroft* készüléke. A leggyakrabban alkalmazott elv az állandó térfogaton végzett nyomásmérések módszere, a Warburg technika.

A Warburg technikát — nagy lehetőségeinek felismerése után is főleg biokémikusok használták és használják tudományos vizsgálatokban, állati és növényi respiráció, növényi asszimiláció, erjedési folyamatok stb. tanulmányozására. A módszer azonban gyakorlati élelmiszeranalitikai, továbbá ipari problémák megoldására is alkalmas, sőt gázfejlődéssel nemjáráó folyamatok tanulmányozására, pl. dilatometriára is felhasználható. A következőkben néhány gyakorlati példán kívánom a Warburg módszer széleskörű alkalmazhatóságát bemutatni.

Élesztőfajok ipari felhasználhatóságának vizsgálata

Az élesztők, mint egysejtű szervezetek élettevékenységének biztosítására ugyanúgy, mint a magasabbrendű növényi vagy állati szervezeteknek, energiatermelő folyamatok lejátszódására van szükség. A sejtekben, szövetekben lejátszódó energiatermelő, exergonikus reakciók általában oxidatív jellegűek, és a biológiai oxidáció fogalma alatt foglalhatók össze. *Palladin* elgondolása szerint, a sejtlégzés illetőleg szövetlélegzés, tehát a biológiai oxidáció levegő jelenlétében (aerob módon) és távollétében (anaerob módon) is végbemehet, pl. glükóz esetében a következőképpen:



ahol R valamilyen hidrogénakceptor. Anaerob körülmények között a hidrogénakceptor valamilyen szerves vegyület, ebben az esetben a folyamatot erjedésnek nevezzük; aerob körülmények között a hidrogénakceptor a levegő oxigénje, ebben az esetben a folyamat az, amit közönségesen lélegzésnek hívunk. A két folyamat egymáshoz való viszonyát már *Pasteur* behatóan tanulmányozta és ő ismerte fel azt, hogy levegő jelenlétében, az aerob lélegzéssel párhuzamosan, az élesztő gyors szaporodása következik be, az erjedés pedig visszaszorul; míg levegő távollétében az erjesztési folyamat dominál. (Pasteur-reakció).

Az egyes élesztőfajok ipari felhasználhatósága az erjesztő, illetőleg lélegzőképességüktől függ, miértis ilyen szempontból végzett vizsgálatok a gyakorlat szempontjából igen fontosak. A sütőiparban alkalmazott pékélesztő gyártásához u.i. olyan élesztőfaj alkalmas, melynek nagy a légzési aktivitása. Az élesztőgyárban a hozamot elsősorban az határozza meg, hogy milyen aktívan lélegzenek az élesztők, tehát mily mértékben levegőztethetjük a cefrét. De a pékélesztőtől azt is megköveteljük, hogy a sütőipari felhasználáskor kelesztőképessége nagy legyen, tehát anaerob körülmények között megfelelő erjesztési aktivitással is rendelkezzen. A szesziparban az élesztő lélegzőképességének alárendelt a szerepe, mert ott legfeljebb a gyártás kezdetén levegőztethetjük az élesztőt, később — a tulajdonképpeni felhasználás időszakában — kizárólag az erélyes, gyors erjesztőképességen van a hangsúly. Szeszélesztőnél tehát nem előnyös az aktív és gyors szaporodás, mely főleg lélegzésnél következik be, mert az a szeszhozam csökkenését okozza. Ugyanez a követelményünk a jó sörélesztővel szemben is. Takarmányélesztő előállításánál — a pékélesztő, szesz és söríparral ellentétben — kizárólag a felhasznált élesztőfaj légzési aktivitása fontos, erjesztőképességet egyáltalán nem kívánunk meg, mert az a hozam rovására megy.

A különböző élesztőfajok és fajták közül az egyes iparágakban legjobban alkalmazhatókat Warburg-készülékben végzett mérések alapján választjuk ki. E méréseknél a lélegzés folyamán fogyasztott oxigén mennyiségét, a levegő jelenlétében vezetett erjesztésnél keletkezett széndioxid mennyiségét és a levegő kizárásával folytatott erjedésnél keletkező széndioxid mennyiségét mérik. A szokásos jelzések a következők:

$Q_{CO_2}^N$ = erjedésnél fejlődött szénsav nitrogén atmoszférában, mm³-ben.

Q_{O_2} = lélegzésnél elfogyott oxigén mm³-ben

$Q_{CO_2}^O$ = erjedésnél fejlődött szénsav levegő atmoszférában, mm³-ben

Két különböző pékélesztő (*Saccharomyces cerevisiae* I és II) két sörélesztő (*Saccharomyces carlsbergensis* és *S. ludwigii*), továbbá egy takarmány élesztő (*Torula utilis*) légző és erjesztőképességére vonatkozólag *Pelc* a következő kísérleti adatokat állapította meg Warburg készülékben:

	$Q_{CO_2}^N$	Q_{O_2}	$Q_{CO_2}^{O_2}$	Az erjedés gátlásának mértéke %
	mm ³ /óra			
Saccharomyces cerevisiae I.	274	87	95	66
Saccharomyces cerevisiae II.	260	70	150	42
Saccharomyces carlbergensis	233	8	213	8
Saccharomyces ludwigii	152	45	127	16
Torula utilis	260	180	18	93

Az első oszlopban a vizsgált élesztőfajok erjesztőképessége levegőtől mentes azaz nitrogén atmoszférában van feltüntetve, ami gyakorlatilag a tésztakelesztés vagy a szeszcefrék erjesztése körülményeinek felel meg. A második és harmadik oszlopban a levegő jelenlétében egyidejűleg végbemenő légzés, illetőleg erjesztés adatai láthatók, amikor az élesztősejtek részben elélegzik, részben erjesztik a tápanyagot. A második oszlopban a légzésnél fogyott oxigén mennyisége, a harmadik oszlopban a légzés mellett végbemenő erjesztésnél keletkező szén-sav mennyisége van feltüntetve. A negyedik oszlopban az erjedés gátlás mértéke %-ban van kifejezve olyképpen, hogy a levegő távollétében és levegő jelenlétében fejlődött széndioxid mennyiségnek különbsége a levegő távollétében fejlődő széndioxid mennyiségére van vonatkoztatva. Tehát erjedésgátlás százalék =

$$= \frac{Q_{CO_2}^N - Q_{CO_2}^{O_2}}{Q_{CO_2}^N}$$

A teljes erjedést u.i. a nitrogénatmoszférában bekövetkező szén-savfejlődés jellemzi, viszont az oxigén jelenlétében csökkentett mértékű erjedést a III. számoszlop adatai, tehát a levegő jelenlétében fejlődött széndioxid mennyisége adja meg.

Az adatok tüzetes elemzése azt mutatja, hogy a két pék-élesztő közül a második pék-élesztőgyártáshoz kevésbé megfelelő, mert légzési aktivitása kisebb és az erjedés is csak 42 %-al csökkent. Ennek megfelelően ezzel az élesztővel az elsővel szemben kisebb hozam érhető el, mert a nagyobb erjesztés-

tőkéesség a hozam rovására megy. A 2 vizsgált sörélesztő közül feltétlenül jobb a *S. carlsbergensis*, mivel aránylag jó erjesztőképesség mellett, oxigén jelenlétében légzési aktivitása csekély és ennek megfelelően erjesztőképessége csak nagyon kis mértékben csökken. A *S. ludwigii* élénken lélegzik, mely tulajdonság sörgyártás szempontjából nem kedvező, lévén az aktív erjesztőképesség a döntő. Végül a takarmányélesztő gyártáshoz használt *Torula utilis* faj oxigénmentes közegben erjeszt, oxigén jelenlétében viszont légzése rendkívül aktív, olyannyira, hogy az erjedés csaknem teljes mértékben megszűnik, az erjedés gátlás mértéke 93 %. Ennek megfelelően a *Torula utilis* levegőztetéssel való szaporításra igen alkalmas, mert az erjedés csaknem teljes elmaradása jó hozamot biztosít.

Mikroorganizmusok metabolizmusán alapuló egyéb vizsgálatok

Mikroorganizmusok légzését illetőleg erjesztőképességét különböző kémiai anyagok adagolásával befolyásolni lehet. A befolyásolás mértékének Warburg-készülékben eszközölt megállapítása lehetőséget ad az adalékanyag hatásosságának el lenörzésére. Ily módon lehet lisztjavító anyagokat, pl. KBrO_3 -ot a sütőélesztőre kifejtett hatása alapján vagy *Benigno* és *Berti* szerint tisztítószereket, pl. kvaterner-ammonium vegyületeket baktériumtenyészetekre kifejtett baktericid hatásuk alapján, illetőleg *Kiermeier* szerint, konzerválószeret különböző mikroorganizmusokra kifejtett baktericid vagy bakteriosztatikus hatásuk alapján ellenőrizni. A megfelelő következtetéseket már a Warburg készülékben megfigyelt oxigénfogyasztás vagy széndioxidfejlődés, továbbá a kísérlet időtartamának adatai alapján szerkesztett egyenes iránytangensének nagyságából le lehet vonni.

A Warburg-technikának további igen fontos alkalmazási területe a szennyvizek biokémiai oxigén-szükségletének közvetlen megállapítása. Régebben az oxigén-szükségletet úgy állították meg, hogy a szennyvizet hígítóvízzel keverték. Minthogy azonban ez indirekt eljárásban a hígítóvíz minősége az eredményekre nagy befolyást gyakorolt, *Jaegers* és *Niemitz* a Warburg-készülék alkalmazásával közvetlen eljárást dolgoztak ki, melynek előnye az is, hogy az oxigénfelvétel mértékének megállapítása után a vizsgált szennyvízben további vizsgálatok végezhetőek; így a szennyezőanyagok és oxidációs termékeik meghatározhatóak. Az ilyen vizsgálatokhoz azonban a szokásos

Warburg-edénykéek helyett 125 ml-es Erlenmeyer-lombikokat kell alkalmazni és a fejlődő szénsav abszorpciójáról lúgos oldatot tartalmazó küvetta elhelyezésével kell gondoskodni.

Enzimes analízis

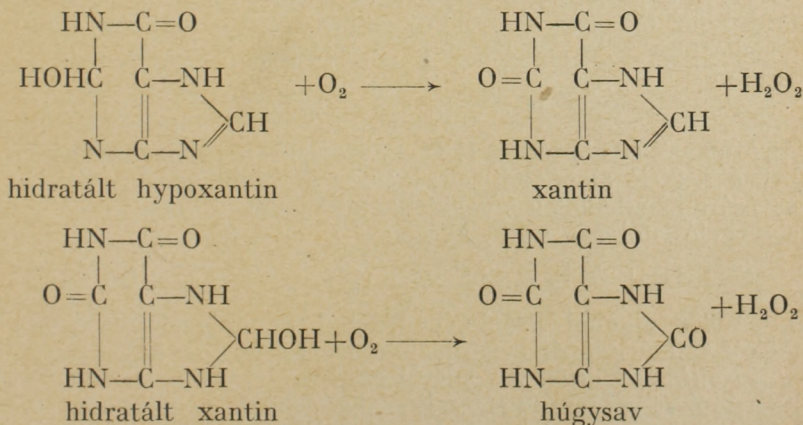
Az enzimes analitikai módszerekhez azok a korszerű elemzési eljárások tartoznak, amelyek kivitelzésében tiszta enzimek készítményeket használnak fel. Míg a modern mikrobiológiai analitikai eljárásokban a hatást kifejtő enzimek az élősejtekhez kötöttek, az enzimes analízisben az élő sejtekből vagy szövetekből izolált enzimeket alkalmaznak. Már az enzimekémia fejlődésének kezdeti időszakában is felismerték, hogy az enzimek sajátos tulajdonságaik folytán, a természetes szerves anyagok egyes alkotórészeinek meghatározásában fontos szerepet játszhatnak. Az enzimeknek u.i. két olyan tulajdonságuk van, melynek felhasználása az analitikában előnyös: az egyik katalizátor hatásuk specificitása, a másik kémiai és fizikai behatásokkal szemben tanúsított nagy érzékenységük. Éppen ezen két tulajdonságuk alapján az enzimes analitikai eljárásokat két csoportba sorolhatjuk. Az első csoportba a „szubsztrát specifikus” enzimes eljárások tartoznak, amelyek elvileg azon a felismerésen alapszanak, hogy a vizsgálandó anyagot a meghatározandó alkotórészre specifikus enzim hatásnak teszik ki és az enzimes bontás termékeit határozzák meg. A második csoportba tartoznak azok az eljárások, amelyekben a vizsgálandó anyag az enzimtevékenységet fokozza vagy csökkenti s az enzimtevékenység változásából következtetnek a befolyásoló anyag mennyiségére. Minthogy *Bersin* szerint, az ilyen enzim inhibitorokat és aktivátorokat összefoglalóan „effektorok”-nak nevezhetjük, a második csoportba tartozó módszerek az „enzimes effektor analízis” gyűjtőnéven foglalhatók össze. Mindkét csoportba tartozó módszerek kivitelzésénél manometriás meghatározásokra is támaszkodnak. A következőkben néhány példa alapján kívánom a Warburg-készülék ilyenirányú felhasználásának lehetőségeit bemutatni.

Szubsztrát specifikus eljárások

Az ebbe a csoportba tartozó analitikai eljárások nagy előnye a tisztán kémiai módszerekkel szemben az, hogy a kívánt alkotórész meghatározása a kísérőanyagok előzetes elválasztása nélkül eszközölhető. Természetesen csak olyan anyagok határozhatók meg ilyen módon, amelyek enzimhatás szubsz-

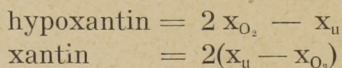
trátjai. Minthogy azonban a legtöbb természetes szerves anyag enzimszubsztrát, a biológiailag fontos vegyületek legtöbbje ily módon meghatározható. Az eredményes munkához még elengedhetelen feltétel a gondosan tisztított enzimméző, mert a specificitás a szennyezéssel párhuzamosan csökken. Enzimes analízisnél megfigyelt kedvezőtlen tapasztalatok legnagyobb része nem kellően tisztított enzimméző alkalmasítására vezethető vissza.

A Warburg-készülékkel eszközölhető szubsztrát specifikus eljárások között tipikusak azok, amelyek kivitelezésénél sárga oxidációs enzimeket alkalmaznak. A sárga oxidációs enzimek az oxidációs enzimek ama csoportjába tartoznak, amelyek koenzimként riboflavint (B₂-vitamint) tartalmaznak. Ezen enzimek specificitása a fehérjerész (apoenzim) szerkezetén alapszik. Az enzimes analízisben e csoport három enzimeje talált fontos alkalmazást: a xantin oxidáz (Schardinger enzim), a glükóz-oxidáz és a d-aminosavoxidáz. A Schardinger-enzimmel, mely májból és veséből állítható elő, a hypoxantin és xantin határozható meg, mely vegyületek enzimhatásra húgysavvá oxidálódnak. A reakciók a következők:



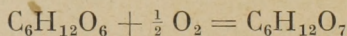
Voltaképpen dehidrogénezés következik be, a felszabaduló hidrogént a levegő molekuláris oxigénje veszi fel. Átmeneleg H₂O₂ keletkezik, mely az enzimhatást hátrányosan befolyásolja, ezért katalázal kell elbontani. Bár az enzim specificitása viszonylagosan csekély, mert a xantinon és a hypoxantinon kívül az adenint és egyes aldehideket is oxidál, mégis

Krebs és *Oerström* olyan eljárást dolgozott ki, melynek segítségével a két oxipurin származékot 0,1 mg mennyiségben kvantitativ meg lehet határozni azáltal, hogy nemcsak az oxigénfogyasztást, hanem a keletkezett hűgysav mennyiségét is megállapítják. Az aldehidek oxidációja u.i. nem vezet hűgysavképződésre és az adenin oxidációja nagyon lassan megy végbe. Így sikerült a xantin és hypoxantin egymásmelletti meghatározása is. A módszer kivitelzésében a fogyasztott oxigént a Warburg-készülékkel, a keletkezett hűgysavat kolorimetriásan határozzák meg. Ha $x_{O_2} = \text{mol } O_2$, mely a reakció során felhasználódott, $x_u = \text{mol hűgysav}$, mely a reakció során képződött, akkor figyelembevéve, hogy a fenti reakcióegyenletek alapján a hypoxantin hűgysavvá oxidációjához 1 mol O_2 és a xantin oxidációjához $1/2$ mol O_2 szükséges :

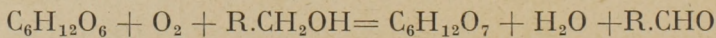


Mínthogy a hypoxantin és xantin a húsnak, illetőleg húskivonatnak fontos alkotórésze, e meghatározásnak nemcsak biokémiai, hanem élelmiszeranalitikai jelentősége is nagy.

A glükózoxidáz (notatin) alacsonyabbrendű gombákban fordul elő, hatására a d-glükóz glükosavvá oxidálódik: hidrogénakceptor a levegő oxigénje. A lejátszódó reakció a következő :



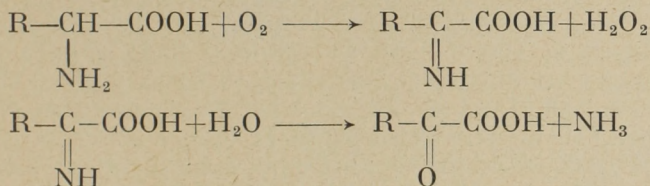
Az átmenetileg képződött H_2O_2 -t katalázzal bontják el. Amennyiben a reakció alkoholok jelenlétében játszódik le, úgy kataláz hatására az alkoholok aldehidekké alakulnak. Ebben az esetben a reakció lefolyása a következő :



Fölös alkohol jelenlétében tehát az oxigénfogyasztás a glükóz oxidációjánál megfigyelt oxigénfogyasztás kétszerese.

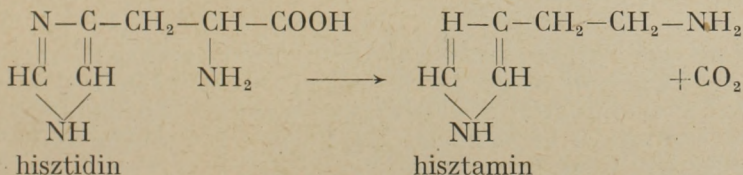
Keilin és *Hartree* vizsgálatai szerint, az enzim specificitása kielégítő. A módszer nemcsak szabad glükóz meghatározására alkalmas, hanem olyan enzimreakciók tanulmányozására is, melyek során glükóz szabadul fel. Ilymódon a szaharóz hidrolizise β -h-fruktozidázzal, a maltóz hidrolizise maltázzal, keményítő-hidrolizis amilázokkal, a glükózfoszfátok bontása foszfátázzal és a glükozidok hasítása glükozidázokkal jól követhető. A felhasznált oxigént minden esetben Warburg-készülékben határozzák meg.

A D-aminosavoxidáz a legtöbb állati szövetben kimutatható, veséből és májból állítják elő. Hatására a nem természetes D-konfigurációjú aminosavakból az aminocsoport oxidatív lehasításával ketosavak keletkeznek. A reakció lefolyása a következő:



Az enzim nagyon specifikus hatású és ezért a természetes L-aminosav elegyekben esetleg előforduló D-aminosavak kimutatására nélkülözhetetlen. Ezenfelül *Herken* és *Erxleben* tanulmányai szerint, felhasználható a D-peptidázok kimutatására is. A reakciónál felhasznált oxigént Warburg-készülékben határozzák meg.

A szubsztrát specifikus enzimes elemzési eljárások közül újabb időben különösen nagy jelentőségre tett szert aminosavak meghatározása aminosavdekarboxilázokkal. Ezek az enzimek, amelyek baktériumokból viszonylagosan könnyen állíthatók elő, és koenzimjük pyridoxal - 5 - foszfát nagyon specifikus módon a L-*a*-aminosavakat aminokká alakítják. A hisztidinből pl. hisztamin keletkezik, a következő reakció egyenlet szerint:

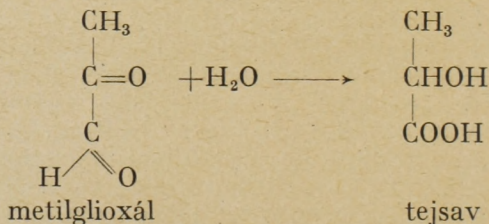


Minthogy a különböző baktériumokból különböző aminosavakra specifikus enzimek preparálhatók, fehérjehidrolizátumok elemzésére e módszer kiválóan alkalmas. A meghatározás technikája minden esetben a reakció során felszabaduló CO₂ manometriás meghatározásán alapszik, Warburg-készülékben. Élelmiszerkémiailag szempontból különösen érdekes a nélkülözhetetlen (esszenciális) aminosavak ilyen módon eszközölhető meghatározása.

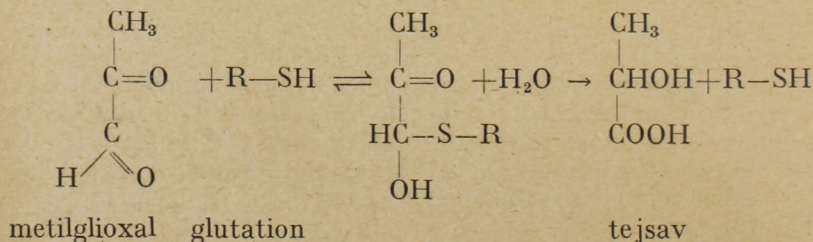
Enzimes effektor analízis

Az ebbe a csoportba tartozó enzimanalitikai eljárások száma jelenleg még csekély, aminek oka az, hogy az effektorhatás analitikai értékeléséhez a hatás kinetikájának pontos ismerete szükséges. A kiértékelés tehát csak akkor sikerül, ha az egy időben ható különböző effektorok befolyását egymástól el tudjuk választani. Maga az eljárás abban áll, hogy az enzimaktivitást egyszer az effektor jelenlétében, másodszer pedig effektor adagolása nélkül mérik. Az aktivitás változásából az effektor mennyiségére következtetni lehet. Minthogy az enzimek, mint katalizátorok effektorokra rendkívül érzékenyek, a meghatározás érzékenysége is igen magas fokú, tehát olyan kis mennyiségű effektort lehet ilyen módon kimutatni, ami egyébként csak spektrál analitikai úton lehetséges.

Ezen eljárásokra jó példa a glutation meghatározása glioxalázzal. A glioxaláz, mely élesztőből, májból, veséből, izmokból, magasabbrendű növények megvaiból és baktériumokból állítható elő, a metilglioxált tejsavvá alakítja a következő reakcióegyenlet szerint :



Az enzim működéséhez glutation jelenléte szükséges, melynek igen kis mennyiségre az enzimaktivitást jelentősen fokozza. *Jowett* és *Quastel* szerint, először a metilglioxál glutationnal átmeneti terméké kapcsolódik, majd tejsav keletkezése közben a glutation ismét felszabadul.



A reakció annyira specifikus, hogy igen kis mennyiségű glutation meghatározására alkalmas. *Ennor* szerint, a meghatározást Warburg-készülékben végzik úgy, hogy az adagolt bikarbonátpufferből felszabaduló és a keletkező tejsavval arányos mennyiségű CO_2 -t mérik. Ismert mennyiségű glutation adagolásával végzett kísérletekből szerkesztett görbe alapján, ismeretlen glutation tartalmú vizsgálandó anyag glutation koncentrációja megállapítható.

Dilatometriás eljárások

A biológiai gázcsere vizsgálatán, enzimes analitikai eljárásokon kívül a Warburg-készülék egyéb célokra, így fizikai mérések elvégzésére is felhasználható. Igen érdekes alkalmazási terület pl. a Warburg-készülékben dilatometriás mérések elvégzése olyan anyagokon, amelyek vizsgálatára a klasszikus dilatométerekben nem vezet megfelelő eredményre. A legújabb időben *Giddey* és *Egli* figyelembevételével *Bailey* azon megállapítását, hogy a zsírok belsejében mindig előforduló üregek a klasszikus dilatométerekben alkalmazott mérőfolyadékok (higany, víz stb.) szabályos mozgását zavarólag befolyásolják, kakaóvaj, illetőleg általában zsírok kristályos polimorfizmusának tanulmányozásakor Warburg-készüléket alkalmaztak, amely a dilatometriával követhető változások ellenőrzését olyan körülmények között is lehetővé tette, amelyek máskülönben súlyos nehézségeket okoznak. Ilyen körülmények pl. a gyors hűtés, különböző hőmérsékleten eszközölt kristályosítás, különböző modifikációjú mikrokristályokkal végzett ojtás hatása stb. Az így végrehajtott dilatometriás vizsgálatok a trigliceridek kristályos állapotának tanulmányozására igen alkalmasnak bizonyultak és nagyban hozzájárultak a tudományos alapokon nyugvó csokoládégyártás kidolgozásához, illetőleg a csokoládé szürkülését okozó átkristályodás okainak megismeréséhez.

Dilatometriás eljárásokhoz a Warburg-készülék minden további nélkül felhasználható csupán zárófolyadéknak Brodie-oldat helyett tiszta parafin-olajat kell alkalmazni. A nyomással változó tenziójú vízgőz okozta hibák kiküszöbölésére pedig a készüléket száraz nitrogéngázzal töltik meg. A meghatározáshoz, tehát a térfogatváltozás kiszámításához a készülék kezdeti és a kísérlet végén megállapított térfogatának ismerete szükséges. Ha u. i. a gáztörvények figyelembevételével

V_0, P_0, T_0 = a standard paraméterek

V_1, P_1, T_1 = paraméterek a mérés kezdetén

V_2, P_2, T_2 = paraméterek a kísérlet végén,

akkor

$$\frac{P_0 V_0}{T_0} = \frac{P_1 V_1}{T_1} = \frac{P_2 V_2}{T_2}$$

összefüggésekből

$$V_1 = \frac{P_2 V_2 T_1}{T_2 P_1}$$

A kezdeti térfogat kiszámítása ennek alapján könnyű, mert ismerjük a végső térfogatot (V_2) = a készülék térfogata — a folyékony zsír térfogata, a kísérlet hőmérsékletén (T_2) továbbá ismerjük a kísérlet végén uralkodó nyomást (P_2) = $P_1 + h$, ahol P_1 a nyomás a mérés kezdetén, h pedig a manométeren leolvasott magasságkülönbség. A nyomásokat a zárófolyadék milimétereiben adják meg. A számítások során a parafinolaj fajsúlyát figyelembe kell venni ($d = 0,8712$, ha a hőmérséklet $21\text{ }^\circ\text{C}$).

Ezzel a módszerrel pl. a különbözőképpen kristályosított kakaóvaj mintákban előforduló glicerid kristálymodifikációkat ki lehet mutatni. A szürkületést okozó metastabil kristálymodifikációt tartalmazó minta dilatációs görbéje u.i. nem egyenletesen változó.

IRODALOM

- Benigno, P., és Berti. T.* : Atti Accad. naz. Lincei (Ser. 8) 9. 370. 1950.
Dixon, M. : Manometric methods, Cambridge 1913.
Giddey, C., és Egli, R., U. : Intern Chocol. Rewiew, 11. 218. 1956.
Hewitt, L. F. : Oxidation -reduction potentials in bacteriology and biochemistry, Edinburgh 1950.
Jaegers, K., és Niemitz W. : Städtehyg. 3. 246. 1952.
Kiermeier, Fr. : Z. U. L. 97. 182. 1953.
Mc Culloch E. C. : Desinfection and sterilisation, Philadelphia 1945.
Pelc, A. : Szeszipar 4. 110. 1956.
Stetter, H. : Enzymatische Analyse, Weinheim 1951.

Élelmiszerbarnulásokat okozó vegyületek keletkezése és kémiai szerkezete

SPANYÁR PÁL

Konzerv, Hús és Hűtőipari Kutató Intézet, Budapest

Érkezett: 1957. április 16.

Közel ötven évi kutatás után tisztázódott azoknak a láncreakcióknak mechanizmusa, melyek élelmiszerbarnulásokhoz vezetnek. A kutatások túlnyomórésztben e folyamatoknak arra a két csoportjára vonatkoznak, melyeket „enzimes” és „nem-enzimes” barnulásoknak neveztek el.

Az enzimes barnulások lefolyása tekintetében hamarabb alakult ki egységes kép (13). E szerint az enzimes barnulások alapanyagai fenol-, elsősorban difenol-, aminofenol-, vagy poli-fenol-csoportot tartalmazó vegyületek. Ezek polifenoloxidáz és — emellett — gyakran peroxidáz hatására lépnek a levegő oxigénjével reakcióba. A folyamatokat esetleg még más enzimek (pl. „sárga” enzim, citokromoxidáz) is elősegítetik. A több lépcsőben lejátszódó reakció során először kinon csoportot tartalmazó vegyületek keletkeznek. Ezek a továbbiakban polimerizálódnak, fokozatosan nagyobb molekulasúlyú, és vízben, alkoholban, illetőleg lúgban egyre oldhatatlanabb vegyületekké alakulnak át. Az így keletkezett vörös, vörösesbarna, barna, majd feketeszínű anyagokat *melaninoknak* nevezik.

Az enzimes barnulás megindulásának feltétele a növényi és az állati eredetű anyagokban a sejtszisztéma megsérülése. A reakció leggyakrabban az élelmiszereknek a levegő oxigénjével érintkező sérült felületén jelentkezik. Előfordulhat azonban valamely élelmiszer belsejében is barnulás, ha abban szabad oxigén van jelen és a sejtroncsolódás bekövetkezett. A folyamat — irodalmi közlések szerint — enzimhatásra indul meg, de a későbbi számos részletakció folyamán csak egyesekben vesznek részt enzimek, mások ezek közbejötté nélkül bonyolódnak le (20).

A reakciónak *pH és hőmérséklet optimuma van*, ahol a reakciósebesség a legnagyobb. Ettől a ponttól számított mindkét irányban a reakciósebesség csökken. Bizonyos határon túl a reakció meg sem indul, illetőleg a már megindult reakció megáll.

A *pH optimum* az egyes élelmiszereknél pH 4,5 — 6,0 között van. Értéke rendszerint megfelel az illető anyag természetes kémhatásának. A folyamat jelentkezését, illetőleg meg-

szüntetését csak olyan pH változtatással lehetne elérni, amelyen értékek ($< 2,0$ illetve $> 9,0$) élelmiszerekben természetes körülmények között nem fordulnak elő.

A hőmérséklet optimum $40\text{--}50\text{ }^\circ\text{C}$ között mutatkozik. $0\text{ }^\circ\text{C}$ alatt és $65\text{ }^\circ\text{C}$ fölött lényeges barnulás nincsen. Az enzim irreverzibilis inaktiválódása a hideg-zónában még igen kis hőmérsékleten sem történik meg. Átmeneti, igen erős lehűtés után is — kedvező hőmérsékleten — megindulhat az enzimes barnulás. Ezzel ellentétben hosszabb ideig tartó erős hőhatás által az enzim inaktiválódása megtörténhetik, tehát enzimes barnulás ezután már nem jöhet létre. A pH-tól is függően $5\text{--}30$ perces hőhatás $70\text{--}90\text{ }^\circ\text{C}$ között inaktiválja a barnulásban résztvevő enzimeket.

Az enzimes barnulás reakciósebessége az élelmiszertárolás szokásos körülményei között más élelmiszerbarnulásokhoz viszonyítva igen nagy. Hangsúlyozásra szorul, hogy a folyamat csak szabad oxigén jelenlétében indul meg s annak reakciósebességét a jelenlévő oxigén mennyisége, illetve az élelmiszereknek az oxigénnel érintkező felülete döntően befolyásolja. Ezért többen (3, 11, 25) javasolták az utóbbi időben, hogy ezt a láncreakciót *oxidációs barnulásnak* nevezzék el.

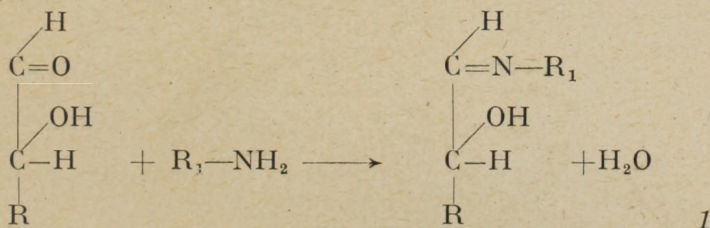
Az élelmiszerekémia területén végzett újabb kutatások (11, 25) főleg arra mutattak rá, hogy az élelmiszerekben képződő melaninok alapanyagai között — az úgynevezett tannin-csoportba sorozott anyagok mellett — azok az antocianidin, flavon, flavonol és flavonon csoportot tartalmazó vegyületek is szerepet játszanak, amelyek, mint glükozidok, a növényi íz, illat és színanyagok közé tartoznak. Nem történt sem a múltban, sem az utóbbi időben utalás arra, hogy az élelmiszerbarnulást okozó színanyagoknak, a melaninoknak, milyen kémiai szerkezetük van. Erre a következőkben mi mutatunk rá.

Megfigyeléseink alapján már korábban felhívtuk a figyelmet (25) arra, hogy — az irodalmi adatokkal ellentétben — a növényekben lévő polifenol-csoportot tartalmazó vegyületek az enzimhatást feltétlenül megszüntető időtartamú és hőmérsékletű hőhatás után is átalakulhatnak melaninokká. Az eddigi enzimes barnulásnak nevezett folyamat tehát enzimek közbejötté nélkül is végbemeget. Megfigyelésünket később *Biedermann* (3) kísérletekkel is alátámasztotta. *Thiele* és *Kettner* (30) modellkísérletekben igazolták, hogy a polifenolok oxidációja polifenoloxidáz jelenlétében, illetve anélkül azonos módon megy végbe és a keletkezett végtermékek mindkét esetben

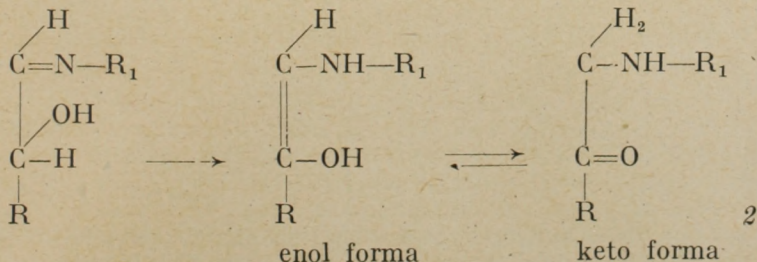
azonos tulajdonságúak. A polifenol csoportot tartalmazó vegyületek változása enzimek jelenlétében, illetőleg azok nélkül legfeltűnőbb módon a reakció sebességében különbözik egymástól. Az utóbb megfigyelt reakció sebessége ugyanis természetesen lényegesen kisebb. Annak megállapítása, hogy a két reakció sebessége közötti különbség élelmiszerekben a barnulási végtermékek összetételét milyen mértékben befolyásolja, még további kísérleteket igényel.

Az élelmiszerbarnulások másik csoportjába az úgynevezett nemenzimes barnulásokat sorolják, melyeket a kutatók túlnyomó része (4, 11, 26) a *Maillard* (19) által leírt barnulási folyamatokkal azonosnak veszi.

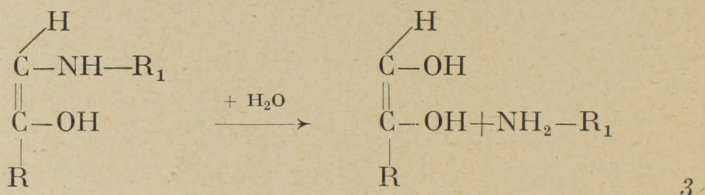
A *Maillard*-reakcióban szabad redukáló csoportot tartalmazó szénhidrátok, illetőleg szénhidrát származékok és szabad aminos-csoportot tartalmazó vegyületek, elsősorban fehérjék és fehérje származékok, megfelelő kedvező körülmények között reakcióba lépnek egymással, melynek következtében barna színű vegyületek keletkeznek. A folyamat egyes részletakciói az utóbbi időben tisztázódtak (4, 5, 11, 12, 17, 25, 26). Ezek szerint a reakció első lépéseként *Schiff* bázis keletkezik:



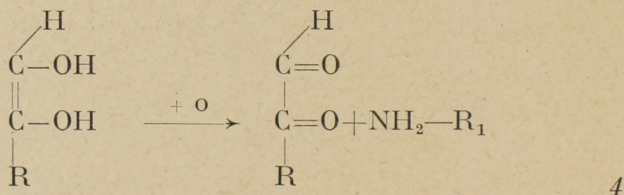
Ezután létrejön az *Amadori*-féle átrendeződés, melynek során egymásba átalakuló enol és keto formájú vegyületek keletkeznek:



Az *Amadori* átrendeződés után a reakció két irányban haladhat. Az első esetben az amino-csoport átmeneti leválása mellett *redukton* típusú vegyületek jönnek létre, melyekre az $\text{HOC} = \text{C}^{\text{OH}}$ csoport a jellemző (9).

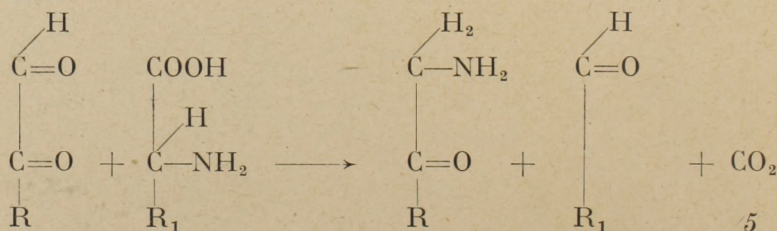


Ezek a továbbiakban dehidrogéneződnek és *dehidroreduktonok* keletkeznek, melyek $\text{O}^{\text{C}}-\text{C}^{\text{O}}$ csoportot tartalmaznak.



A dehidroreduktonok egy részének láncá bezárul, furanóz, illetőleg piranóz-szerű, laktol-gyűrűt alkotó vegyületek jönnek létre. Ezek a ciklikus vegyületek fokozatosan polimerizálódva barna pigmenté alakulnak át. Itt is, mint az enzimés barnulásnál, egyre nagyobb molekulásúlyú és oldhatatlanabb polimerek jönnek létre, melyeket *melanoidineknek* neveznek.

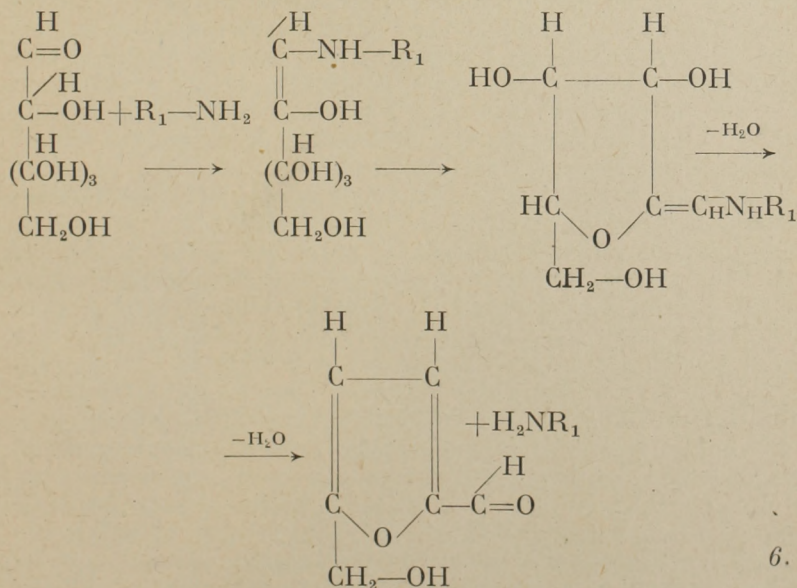
A dehidroreduktonok másik része a rendszerben jelenlévő szabad amino- és szabad karboxil-csoportot tartalmazó vegyületekkel kapcsolódik. Ilyen esetben létrejön a *Strecker*-féle lebontás:



Ez a reakció egyrészt a közeg savasságának csökkentésével és széndioxid képződésével jár, másrészt új redukáló,

illetőleg új szabad amino-csoportot tartalmazó vegyületek létrejöttét eredményezi. A redukáló csoportot tartalmazó vegyületek az előbb közölt 1—4 reakciók alapján a rendszerben még jelenlévő amino-csoportot tartalmazó vegyületekkel léphetnek reakcióba. A *Strecker*-féle lebontás révén keletkezett új, amino-csoportot tartalmazó vegyületek már olyan alakúak, mint amilyenek különben az *Amadori*-féle átrendeződés után jönnek létre (2 képlet keto forma). Ezek tehát előbb az enol formába mehetnek át, majd reduktonokká alakulhatnak és a már ismertetett úton haladhatnak a polimerizálódás felé.

Az *Amadori* átrendeződés után azonban egy másik út is lehetséges (10, 25, 31, 32, 33). Ebben az esetben az átrendeződés folyamán keletkezett enol típusú vegyület láncza azzonnal bezárul, majd — az amino-csoport leszakadása után — furfuraldehid jellegű vegyületek jönnek létre. Egy hexózra vonatkozólag a reakció a következőképpen alakul:



6.

Az *Amadori*-féle átrendeződés után egy rendszerben, egymás mellett, egyidőben mindkét folyamat lejátszódhatik. Arányukat a közeg pH-ja szabja meg (21,31, 32). Minél kisebb a pH értéke, annál nagyobb a valószínűség a furfuraldehid csoportba tartozó vegyületek keletkezésére.

Egyes szerzők (10) szerint a gyűrű bezáródása, furanóz típus vegyületek keletkezése az aminos-csoport leszakdása nélkül is megtörténhetik. Ezek szerint a további polimerizáció során mind aminos-csoportot tartalmazó, mind pedig attól mentes polimerek keletkezésére van lehetőség.

Mint említettük a nem enzimés barnulás folyamatát gyakran azonosítják a *Maillard*-féle barnulással. Véleményünk szerint a *Maillard*-féle barnulás a nemenzimes barnulásnak csupán egyik — bár kétségtelen leggyakoribb — fajtája. Ezért helyesnek tartanók a nemenzimes barnulás fogalmát — a fentiektől eltérően — kiterjeszteni, viszont a *Maillard*-féle barnulás fogalmát beszűkíteni.

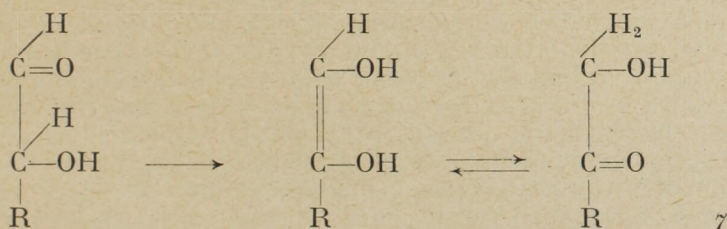
Kísérleteink ugyanis azt mutatják, hogy a *Strecker*-féle lebontás és az ezzel kapcsolatos savképződés kizárólag akkor jöhet létre, ha a reakcióba redukáló csoportot tartalmazó szénhidrát származékokkal *aminosavak*, illetőleg más *szabad aminos és szabad karboxil-csoportot együttesen* tartalmazó vegyületek (elsősorban fehérjék vagy fehérje származékok) lépnek reakcióba. A széndioxid ugyanis minden esetben a szabad karboxilcsoport leszakadása révén képződik. Ezért a *Maillard*-féle reakció fogalmából azokat a folyamatokat ki kell iktatni, melyek olyan aminok részvételével jönnek létre, melyek szabad karboxil-csoportot nem tartalmaznak.

Az utóbbi csoportba tartozó folyamatok tehát abban különböznek a *Maillard* reakciótól, hogy azokban a *Strecker*-féle lebontás elmarad. E tekintetben viszont hasonlítanak azokhoz a barnulásokhoz, amelyek egyrészt ugyancsak redukáló szénhidrát származékok, másrészt viszont aminos-csoportot nem tartalmazó szerves savak (pl. citromsav, borkősav) kapcsolata révén jönnek létre (12, 22, 23, 24). Kísérleteink szerint (25) itt sincsen szénsav képződés, viszont itt is van mind redukton, mind furfuraldehid típusú vegyületek képződésére lehetőség.

Végül ugyancsak a nemenzimes barnulás fogalmába, de szintén külön csoportba kell sorolnunk az élelmiszerekben viszonylag ritkán előforduló azokat a barnulásokat, amelyek egymagukban szénhidrátokból, illetőleg szénhidrát származékokból kisebb-nagyobb hőhatásra keletkeznek. Ezeket a reakciókat karamell képződésnek nevezik, de fogalomkörüket különböző szerzők (15, 31, 36) nem egységesen határolják. Kísérleteinket más szerzők megfigyeléseivel összehasonlítva úgy látjuk, hogy karamellképződésnek kell nevezni mindazokat a reakciókat, melyek a fenti feltételeket kielégítik, függetlenül a hőhatás mértékétől és a jelenlévő víz mennyiségétől. Tehát ide kell

sorolni egyrészt a cukor és keményítő 100 C° felett lefolyó pörkölését, amely lényegében csekély víztartalmú vagy vízmentes anyagokban jön létre. Ide tartoznak a cukortartalmú oldatoknak semleges vagy enyhén lúgos vizes közegben történő változásai is, melyek 100 C° alatt és felett — bár különböző sebességgel — egyaránt lefolynak.

A szénhidrát származékok és amino-csoportot nem tartalmazó szerves savak együttes, illetve a szénhidrát származékok egymagában történő barnulására az a reakció vet világot, amelyet először *Lobry de Bruyn* és *Ekenstein* (18) írtak le. Ezek szerint redukáló szénhidrát származékokban enyhén savas vagy enyhén lúgos közegben enolizáció áll be.



7

Itt is reduktonok keletkeznek, melyek oxidálódása dehidroreduktonokká, majd polimerizációja ugyanúgy megtörténhetik, mint a *Maillard* reakció termékeinél. Hasonlóképpen megtörténhetnek az enolizált termékek közvetlen átalakulása furfuraldehid alakú vegyületekké is.

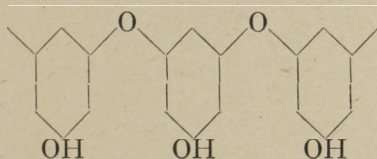
Mindezek alapján úgy látszik, hogy a szénhidrát termékek barnulással járó változásai valamennyien egy csoportba tartoznak és a reakciók mechanizmusa is hasonló egymáshoz. Mindegyikben lényegében szerepet játszik a szénhidrát származékok redukáló csoportjainak enolizációja: a *Lobry de Bruyn* féle átrendeződés. Ennek csupán egyik, speciális alakja az *Amadori*-féle átrendeződés, amelyben amino-csoportot tartalmazó vegyület átmeneti bekapcsolódása révén érkezik el ugyanaz a kiindulási anyag ugyanazon végtermékhez. Minthogy az első, általános reakciónak sebessége — egyébként azonos körülmények között — jóval kisebb, mint a második, speciális reakcióé, az amino-csoport bekapcsolódását *katalitikus tényezőnek* kell tekinteni. Ennek számszerű igazolását bonyolulttá teszi az a körülmény, hogy a redukáló szénhidrát származékok és amino-csoportot tartalmazó vegyületek nem csupán *Schiff* bázis alakjában kapcsolódnak egymáshoz (5, 25). Kísérletileg igazoltuk

azt is (25), hogy az amino-csoportot tartalmazó anyagok és redukáló szénhidrát származékok kapcsolódásának arányát nem csupán a reakcióképes csoportok mennyisége és aránya szabja meg, hanem függ a reakcióba lépett anyagoknak e csoportoktól független kémiai összetételétől is. Ismeretes, hogy a barnulási folyamatokban más anyagok (pl. foszfátsók) jelenléte is katalitikus hatású (22, 23, 27). Ennek mechanizmusa azonban ismeretlen. Ugyancsak köztudomású, hogy e reakciók sebessége mind a pH számértékének, mind a hőmérsékletnek emelkedésével nő. A reakció-sebességet emelő tényezők hatása a folyamatokban összeadódik, tehát több tényező együttes bekapcsolása, illetőleg fokozatosabb érvényesítése, a folyamat sebességét arányosan emeli.

A szénhidrát származékok valamennyi barnulós reakcióját egy csoportba kell sorolni azért is, mert végeredményben a reakció végtermékei (a barna színű vegyületek) mind a melanoidinek csoportjába tartoznak. Ha e folyamatok régi elnevezését megkívánjuk tartani, legcélszerűbb valamennyit „nemenzimes“ barnulásnak nevezni. Általánosságban ez igaz is, noha vannak arra vonatkozólag is adataink (28, 29), hogy egyes élelmi anyagokban (pl. húspan, halakban) a barnulási reakció csak akkor megy végbe, ha e folyamatban résztvevő riboz — enzim hatására — a ribonukleinsavból, illetőleg annak származékaiból szabaddá válik. Tehát van olyan nemenzimes barnulás is, melynek előfeltétele egy enzim behatás.

Kevés szó esett eddig arról, hogy a polifenol származékokból, illetőleg szénhidrát származékokból keletkezett barna pigmentek milyen összetételűek. Ez annál feltűnőbb, mert már *Maillard* feltételezte (19), hogy az általa leírt reakcióban keletkezett melanoidinek a humin vegyületek csoportjába tartoznak. Később *Enders* és munkatársai (6, 7) a melanoidinek és huminok kémiai és fizikai tulajdonságainak párhuzamos összehasonlítása alapján igazolták a két ismeretlen szerkezetű vegyület-csoport közeli rokonságát. Vizsgálataik alapján joggal állították, hogy a melanoidinek és a huminok közös vegyület-csoportot alkotnak. A melanoidinek összetételére és szerkezetére azonban csak azóta tudunk közelebbről rámutatni, mióta számos kutató (16, 30) vizsgálata nyomán maguknak a humin vegyületeknek szerkezetét megismerték. Ezek szerint a huminok olyan polimer vegyületek, melyeket ciklikus, rendszerint 5—6 szénatomból álló, úgynevezett „mikroalapvegyületek” alkotnak. A gyűrűket egy-egy aktív csoport kapcsolja össze, amely a gyűrűk összekapcsolódásánál, azok között, mintegy

hidat alkot. Az egyes gyűrűkön ezen felül még egy vagy több olyan aktív csoport van, amely az egyes huminvegyületek kémiai jellegzetességét adja meg. Az eddig közelebbről megismert huminanyagok „mikroalapvegyület”-eként legtöbbször benzolgyűrűt tartalmazó vegyület szerepel. Elképzelhető azonban más, homo és heterociklikus aromás, illetőleg piranóz, vagy furanóz típusú, laktol-gyűrűt alkotó alapvegyület is. Összekötő hídként rendszerint -O-, CH-, CH₂-, NH-, N-, S-, csoportok szerepelnek. A jellegzetes aktív csoportok között az -OH, -COOH, -CH₃, -NH₂, -PO₃H₂ a leggyakoribbak. A polimer vegyületek szerkezetét példaképpen az alábbi képlet szemlélteti:



és

Az azonos „mikroalapvegyület”-et tartalmazó polimer vegyületek egymástól molekulasúlyban különböznek, amelyet az egymáshoz kapcsolt ciklikus csoportok száma határoz meg. A különböző molekulasúlyú polimerek (amelyek természetesen számos fizikai tulajdonságban eltérnek egymástól) elnevezése az egyes szerzőknél (1, 2, 14, 30) nem mindig következetes és azonos, mert lényegében fizikai tulajdonságuk alapján osztották fel különböző csoportokra még akkor, amikor kémiai összetételük, illetőleg szerkezetük nem volt ismeretes. Általában az alkoholban oldható, erősen savanyú közegben sem kicsapódó, viszonylag legkisebb molekulasúlyú anyagot *fulvósavnak* nevezik. A 0,05 n alkáliában oldható, erősen savanyú közegben kicsapódó anyagot, ha a molekulasúlya 1,000 alatt van, *himatomelansavnak* hívják. 1.000 és ennél nagyobb molekulasúlyú, lúgban oldható hasonló szerkezetű anyagoknak, melyek rendszerint 10 „mikroalapvegyületet” kapcsolnak össze, *huminsav* a neve. Gyakran azonban gyűjtőnéven huminsavaknak nevezik valamennyi ebbe a csoportba tartozó és alkáliákban oldható anyagot — tehát a huminsav mellett — a fulvósavat és a himatomelansavat is. *Thiele* és *Kettner* (30) szerint 10 „mikroalapvegyületet” alkotó csoport, tehát egy huminsav, alkot egy *u. n.* „alapvegyületet”. Ez ilyen nagyságrendű egységekben polimerizálódik tovább. Ezek a polimer anyagok vízben, alkoholban, lúgban oldhatatlanok és — már nagy molekulasúlyuknál fogva is —

kolloid tulajdonságaik. Tekintettel azonban arra, hogy a barnulási folyamat egyes szakaszain a rendszerben lévő anyagok teljes mennyiségére vonatkozólag nem azonos időpontban mennek végbe, egy időben és egy rendszerben a huminok különböző molekulásúlyú polimerjei vannak, vagy lehetnek jelen.

Enders és munkatársai (6, 7, 8) igazolták és utána számosan (2, 5, 10, 24, 25, 30) megerősítették, hogy melanoidinek a huminok csoportjába tartoznak. Igazolást nyert az is (30), hogy a melanoidinek keletkezése ugyancsak fulvósavon, himatomelansavon, illetőleg a huminsavnak megfelelő melanoidinsavon keresztül történik. Ismerve a nemenzimes barnulás és a melanoidin képződés összefüggését, megállapítható, hogy a nemenzimes barnulás — tehát nem csupán a Maillard-féle folyamat, hanem a redukáló szénhidrát-származékok és az aminok, illetőleg az amino-csoportot nem tartalmazó szerves savak kapcsolódása következtében előálló barnulás, továbbá a karamell-képződés — termékei valamennyien melanoidinek, tehát olyan huminok, melyeknek alapvegyületei furanóz, vagy piranóz típusu, laktólglyűrűs vegyületek. Ezért a nemenzimes barnulás termékeit a humin vegyületek egyik alcsoportjának kell tekinteni.

E kérdés közelebbi vizsgálata azonban rámutat arra is, hogy nem csupán a nemenzimes barnulás termékei, a melanoidinek, hanem az enzimes barnulás származékai, a melaninok is a huminok csoportjába tartoznak. Ismeretes (16, 25, 30) ugyanis, hogy éppen a poli- és aminofenolok oxidációja és polimerizációja által sikerült az első humin vegyületeket szintetikusán előállítani és ennek segítségével volt lehetséges a huminsavak keletkezésének módját és polimerizációjának mechanizmusát tisztázni. Ezen kiindulási anyagok felhasználásával igazolták, hogy a reakció enzimes behatására is megindítható és a fiziológias körülmények között is végbemehet. Ezzel kapcsolatban derült ki az is, hogy különben azonos körülmények között az enzimek behatására megindított reakció sebessége lényegesen nagyobb.

Másfelől bebizonyosodott, hogy az enzimes barnulás kiindulási anyagai részben polifenol csoportot tartalmazó tannin-szerű vegyületek, másrészt ugyancsak polifenol csoportot tartalmazó flavon, illetőleg antocianidin vegyületek származékai, és ezek oxidációja, majd polimerizációja a melaninok képződéséhez vezet.

A kétoldali megállapítások alapján úgy látszik, hogy az enzimes barnulás megindulásának feltétele olyan változás, melynek következtében a felsorolt alapvegyületekből redukton-szerű

(tehát $\text{HO}=\text{C}=\text{OH}$ csoportot tartalmazó) vegyületek keletkeznek. Ezek a vegyületek a szénhidrát származékokból származó reduktonoktól abban különböznek, hogy itt a jellemző $\text{HO}=\text{C}=\text{OH}$ csoport egy aromás gyűrű részét alkotja. A továbbiakban a reduktonokból — enzim hatására — oxigén felvétele mellett kinonok keletkeznek, melyek aromás gyűrűben foglalt $\text{O}=\text{C}=\text{C}=\text{O}$ csoportot tartalmaznak. Ezek a vegyületek már — mint a melanin mikroalapvegyületei — polimerizálódnak és fulvó, illetőleg himatomelansav keletkezésén keresztül barna színű huminsavak, majd huminok képződéséhez vezetnek.

Feltevésünk szerint (25) teljesen azonos mechanizmust mutatnak azok az élelmiszer barnulások is, melyek polifenol származékokból indulnak ki, de enzim hatás nélkül mennek végbe. A már említett szintézisek (16, 30) e feltevés egyik bizonyítékainak tekintendők. A másik bizonyíték az élelmiszerekben azonos kiindulási termékekből keletkező azonos fizikai tulajdonságú anyagok keletkezése mind enzim hatására, mind anélkül.

Az élelmiszerekben előforduló szénhidrátokból, illetőleg polifenol csoportot tartalmazó vegyületekből keletkező enzim és nemenzimes barnulási folyamatok párhuzamos vizsgálata rávilágít arra, hogy ezek bármennyire is különböznek a kiindulási anyagok és a folyamatok egyes szakaszai tekintetében, lényegében feltűnően sok közöttük az azonos vonásai. Az élelmiszerbarnulás folyamata mindig az, hogy polimer anyagokban olyan bomlási folyamatok, vagy monomer anyagokban olyan változások indulnak meg, melyek végeredményben redukáló hatású aktív csoportok felszabadításával vagy keletkezésével járnak. Ezeknek a redukáló csoportoknak oxidálódása a folyamat második szakasza. Végül bekövetkezik a monomer jellegű vegyületek polimerizálódása, amely ezek hidrogén és oxigén tartalmának viszonylagos megfigyatozásával és széntartalmának megnövekedésével jár. Ily módon akár melanin, akár melanoidin jellegű vegyületek jönnek is létre, végeredményben valamennyien a huminsavak csoportjába tartoznak. Ezek a vegyületek a fokozatos polimerizáció során egyre nagyobb molekulásúlyú anyagokká alakulnak, előbb vízben, illetőleg alkoholban oldhatatlanok lesznek, majd alkáliákban is oldhatatlanokká válnak és kolloid tulajdonságokat mutatnak.

A különböző élelmiszerbarnulások mechanizmusai azonban nemcsak egymáshoz hasonlatosak, hanem egyszersmind a növények humifikálódásának egyes folyamataira (8, 30, 34.) is emlékeztetnek. Ennek alapján e két területen nyert eredmé-

nyek rendszeres összehasonlítása mindkét típusú folyamat részleteinek további feltárásában komoly szerepet játszhatnak.

IRODALOM

- (1) *Béres, T., Király, I.*: Agrokémia és Talajtan 5. 245. 1956.
- (2) *Béres, T., Maczelka, L.*: Élelmezési Ipar 10. 72. 1956.
- (3) *Biedermann, W.*: Mitteil. Lebensmittelunt. u. Hygiene 47. 86. 1956.
- (4) *Cremer, H. D., Menden, E.*: Z. U. L. 140. 33. 1956.
- (5) *Danehy, J. P., Pigman, W. W.*: Advances in Food Research 3. 241. 1951.
- (6) *Enders, C., Theis, K.*: Brennstoff-Chemie-19. 445. 1938.
- (7) *Enders, C.*: Koll. Zeitschr. 85. 71. 1938.
- (8) *Enders, C.*: Biochem. Zeitschr. 314. 388. 1943.
- (9) *Euler, H., Hasselquist H.*: Reduktone. Stuttgart 1950.
- (10) *Gottschalk, A., Patridiges, S. M.*: Natur 165. 684. 1950.
- (11) *Heintze, K.*: Deutsche Lebensmittelrundschau 51. 69. 1955.
- (12) *Hodge, J. E.*: Agric. and Food Chemistry, 1. 928. 1943.
- (13) *Joslyn, M. A., Pointing, S. D.*: Advances in Food Research, 3. 1. 1951.
- (14) *Juckenack, A.*: Handb. d. Lebensmittelchemie VIII/3. Berlin 1941. p. 209.
- (15) *Karácsony, D., Rajky A.-né.*: Élelmezési Ipar 7. 368. 1953.
- (16) *Laatsch, W.*: Beitr. für. Agrarwiss. 3.
- (17) *Lea, C. H.*: Food Ind. South Afr. 6. 35. 1953.
- (18) *Lobry de Bruyn, v. Ekenstein, A.*: Trev. Chim. des Pans-Bas 14. 203. 1895. 1 p. 257. 1897.
- (19) *Maillard, L. C.*: C. r. Acad. Sci. Paris 154. 66. 1912.
- (20) *Raper, H. S.*: Enzymforsch. 1. 270. 1932.
- (21) *Shiga, N.*: Journ. Biochem. Tokyo. 27. 307. 1938.
- (22) *Spányár, P.*: KOHIKI Évkönyve 1951–1952. Budapest, p. 16.
- (23) *Spányár, P.*: Acta Chimica 3. 395. 1953.
- (24) *Spányár, P.*: Mezőgazd. és Élelmip. I. Nemz. Kongr. Előadásai 1954. Budapest, 1955. p. 28.
- (25) *Spányár, P.*: Doktori dissert. 1955.
- (26) *Stadlman, R.*: Advances in Food Research 1. 325. 1948.
- (27) *Streuli, H.*: Mitteil. Lebensmittelunt. u. Hygiene. 47. 221. 1956.
- (28) *Tarr, H. L.*: Natur 171. 344. 1953.
- (29) *Tarr, H. L.*: Food Techn. 8. 15. 1944.
- (30) *Thiele, H., Kettner, H.*: Koll. Zeitschr. 130. 131. 1953.
- (31) *Telegdy Kováts, L.*: MTA. Közl. 5. 89. 1954.
- (32) *Telegdy Kováts, L.*: MTA. Közl. 6. 347. 1955.
- (33) *Traiteur, H.*: Brauwissenschaft 1. 153. 1951.
- (34) *Wette, E.*: Angewandte Chemie 67. 153. 1955.
- (35) *Zerban, F. W.*: Sug. Res. Found. Techn. Rp. 2. 1947.

Aminosav papiroskromatogrammok mennyiségi értékelése polarográffal*

LINDNER KÁROLY

Országos Élelmezés és Táplálkozástudományi Intézet, Budapest

Érkezett: 1956. december 30.

I. Fehérje hidrolizátumok amino-nitrogen koncentrációjának beállítása polarográfián.

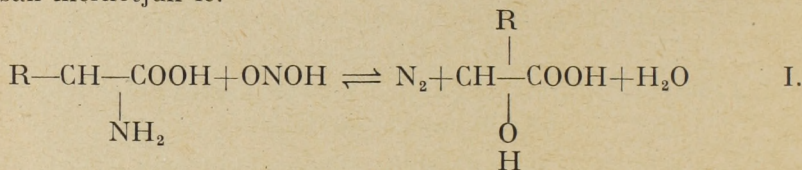
A fehérjék fizikai tulajdonságainak kutatása, mint pl. elektroforézis frakciók, izoelektromos pont, molekulásúly megállapítása stb., igen nagy előrehaladást tett a legutóbbi időkig. Ezzel párhuzamosan főleg a fehérjék táplálkozási szerepének tisztázása céljából a fehérjék aminosav összetételét is kiterjedten vizsgálták. Jelen metodikai munkának is ilyen, főleg a hazai növényi fehérjék aminosav kutatása volt az elindítója. Az aminosav összetétel megállapítására használt modern kvantitatív eljárások közé tartoznak elsősorban a mikrobiológiai aminosav meghatározások (1, 2), továbbá az oszlopkromatográfiás (3, 4) vagy a *Conden, Gordon, Martin* szerinti (5) papiroskromatográfiás elválasztás után végzett fotometriás kiértékelési módszerek.

Az utóbbi papiroskromatográfiás eljárásnak igen nagy előnye az előzőkkel szemben egyszerű és könnyű kiviteli módja. Ezzel szemben olyan nagy érzékenységgű meghatározási módszert igényel, amellyel az általában maximálisan nyerhető 5—50 mikrogrammnyi csekély mennyiségű egyes aminosavak, lehetőleg azonos módszerrel pontosan meghatározhatók legyenek. Alapvető feltétele azonban a módszernek még az is, hogy a kromatogramra felvitt hidrolizátum mennyisége pontos legyen. Célszerű ugyanis a néhány száz mikrogrammnyi aminosav-hidrolizátumot kis folyadék mennyiségben felvinni a szűrőpapirosra.

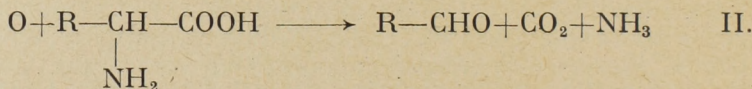
Egyes szerzők legújabb cikkeiben is azt olvassuk, hogy elegendőnek tartják az összes nitrogénnek Kjeldahl-eljárással való megállapítását (6, 7). Kézenfekvőbb azonban — mert a „peptid maradékra” átszámításnak is számszerű alapját adja — az alfa-aminonitrogén tartalom meghatározása.

Az alfa-helyzetű amino-nitrogén mérésével a biokémia és biológia számos jelenségét, folyamatát lehet jellemezni. Az amino-nitrogén meghatározására használatos eljárásokat három csoportba lehet sorolni.

Az elsőbe *Van Slyke* (8) ecetsavas salétromossavas eljárása és ennek módosításai tartoznak. Az I. egyenlettel írható le általánosan a reakció, mely eljárásnál a fejlődő N_2 -t térfogatosan mérhetjük le.

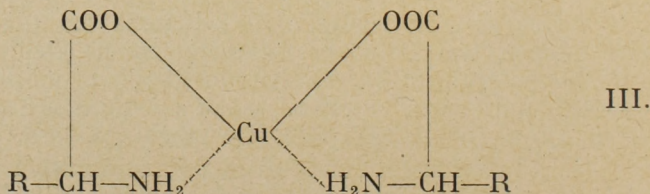


A második csoportba az oxidatív lebontással működő ninhidrin és kloramin T eljárások tartoznak. Ezek segítségével az alfa-amino csoportokkal arányosan képződő CO_2 , illetve NH_3 , vagy nagy ritkán az aldehid mennyiségét határozzák meg, *Van Slyke* és munkatársai (9), *Mc Fadyen* (10), illetve *Virtanen* (11) által kidolgozott eljárások segítségével. A reakciót a II. egyenlet tünteti fel.



A II. egyenlet kvantitatív alkalmazása azonban csak bizonyos megfontolásokkal lehetséges, mert pl. a cisztein, triptofán, prolin és oxiprolin az NH_3 meghatározásnál, a O_2 meghatározás esetében pedig az aszparaginsav a többi aminosavtól eltérően viselkedik.

A harmadik csoportot a rézeljárások képezik, melyeknek alapelve, hogy az aminosavak rézzel meghatározott körülmények között As_2Cu komplex vegyületet képeznek. Ezek az eljárások az aminosavakkal oldhatatlan rézvegyületeket, kuprihidroxidot, kuprifoszfátot reagáltatnak és az amino-nitrogénnel arányosan, a III. képlettel felírható komplexként oldatba ment réz mennyiségét alkalmas eljárással meghatározzák



A komplex réz meghatározására *Kober* és *Sugiura* (12) eljárásából kialakított *Pope* és *Stevens*-féle (13) kuprifoszfátos

jodometriás eljárást a szerzők már fehérjék hidrolízis menetének vizsgálatára használták.

A komplex rezet a jodometriás titráláson kívül dietilditio-karbamáttal fotometriásan (14), sőt mint azt *Martin* és *Mittelman* (15) közleményéből ismerjük, egyes aminosavaknál polarográfiásan is meg lehet határozni.

Makro-mennyiségekkel *Pope* és *Stevens* megállapította, hogy igen jól reprodukálható a reakció és a számított értékekkel 2% relatív hibán belüli egyező pontossággal alkalmazható a jodometriás titrálás.

Kisebb mennyiségeknél *Rauen* és munkatársai (16) nem tartják alkalmasnak a módszert. Ezzel szemben *Woïwod* (14) sikerrel alkalmazta kis aminosavmennyiségekre a dietilditio-karbamátos meghatározást.

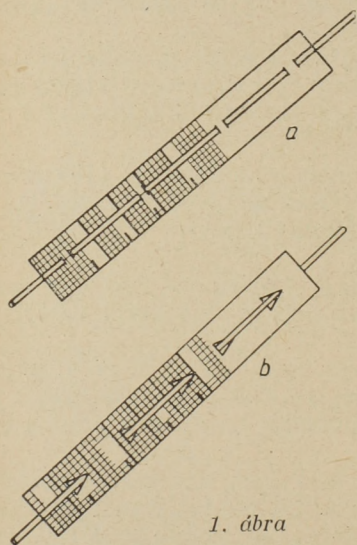
Pontosabbnak és egyszerűbbnek véltem az aminosavhoz kötött réznek polarográfiás meghatározását bevezetni az alfa-amino-nitrogén meghatározására.

Tekintettel arra, hogy az összes aminonitrogén polarográfiás rézkomplex meghatározását még nem alkalmazták, néhány vizsgálatnál a módszer legalsó alkalmazási határát és pontosságát kívántam megállapítani.

Magának a kromatográfiához szükséges aránylag tömény, 1—5% fehérjének megfelelő hidrolizátum pontos bemérése igen nehéz feladat. A feladat megoldására az alábbi pipettát és eljárást alakítottam ki.

A néhány mikroliternyi folyadékot csak kapilláris pipettával lehet felvinni, amelynél a pipetta megfelelő töltését a kapillaritás segítségével végezhetjük. A kapilláris pipettát kb. 2—3 mm átmérőjű és 3—4 mm falvastagságú üvegcsőből úgy készítjük, hogy pillangólángon mintegy 10 cm hosszúságban egyenletesen meglágyítjuk, majd határozott mozdulattal kb. félméterre kihúzzuk. A közepén levő egyenletes részből (a legmegfelelőbb átmérő kb. 0,25 mm) 12 cm-nyi darabot kivágunk. Higanyal centiméterenként töltjük és analitikai mérlegen mérve kalibráljuk, illetve meggyőződünk egyenletességéről. Jól kihúzott pipettánál a kalibrációs görbe egyenes. Ezután közönséges vagy áttetsző milliméter papíroscsikkal, mint mércevel látjuk el az 1. ábra szerint. Mérésnél a milliméter skála alsó vége jelzi, mint kétjelű pipettánál a mérés utáni folyadék felszint. Így a milliméter skálának, amely alulról növekszik, a megfelelő mérendő értékét kell mindenkor a kapillárisban levő folyadékfelszínhez odacsúsztatni. A szükséges folyadékot a kromatográfiában alkalmazott módhoz hasonlóan szűrőpapíros

születkékre szívatjuk fel ugyancsak annak kapillaritása segítségével. A kapillaritást a pipetta végét a szűrőpapírostól határozott mozdulattal történő eltávolításával szüntetjük meg akkor, amikor a skála alsó végéhez ér a folyadék felszín.



1. ábra

Ezzel a pipettával kb. 3 cm² területű kromatográfiás szűrőpapírosra (Sch. et Sch. 2043/b) itatjuk fel a szükséges térfogatú hidrolizátumot, abban a nagyságrend sorozatban, amilyen nagyságrendű ismeretlen aminosav koncentrációt kívánunk meghatározni.

Mivel a később ismertetésre kerülő papíroskromatogramm kiértékeléséhez is tiszta kazein, ill. alfa-kazein hidrolizátumát alkalmazzuk (17), kézenfekvő volt ugyancsak kazein hidrolizátum standardhez mérni az ismeretlen aminosav hidrolizátumokat.

Az előbbieken már említett, a módszer alkalmazására Rauven és munkatársai által felvetett kételyek, valamint *Spier* és *Pascher* részéről (18) észlelt pufferösszetételtől erősen függő amino N/Cu 0,44 érték viszonyainak tisztázására először is preparative tisztán előállított kazein és alfa-kazein hidrolizátummal megállapítottam a módszer érzékenységét, pontosságát és a mérések reprodukálhatóságát. Másodszor pedig tiszta aminosavakból mesterséges kazein aminosavkeveréket készítve, azt is megállapítottam, hogy a kazeinpreparátum, mint abszolút alfa-NH₂-N mérőstandard alkalmazható-e.

A vizsgálatok leírása:

A tiszta kazein és alfa-kazein előállítására *Warner* (19) eljárásán alapuló *Cherbuliez* és *Baudet* (20) módszert használtam fel. A hamu és a nedvesség megállapítása után tiszta fehérjére számítva pontosan 100 mg kazeint mértem be leforrasztható hidrolizáló ampullába, 150—200-szoros mennyiségű 20% sósavval együtt beforrasztva 24 órán át 100°-on hidrolizáltattam.

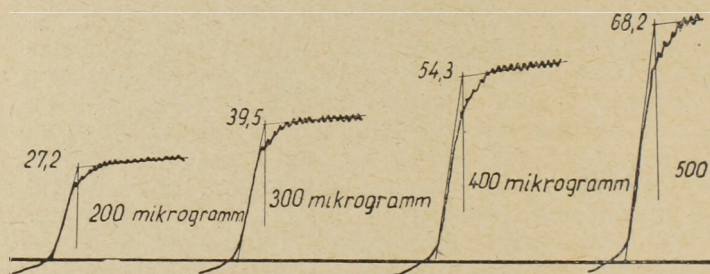
Ilyen eljárás mellett a hidrolizátum csak enyhén sárgás árnyalatú, teljesen átlátszó, tehát melanoidinektől gyakorlatilag teljesen mentes. A sósavnak többszöri bepárlással való elűzése után a maradékot desztillált vízzel 10 ml-re töltöttem. Így az oldat fehéjére nézve 1%-os.

A kazeinhidrolizátumból azonos méretű szűrőpapírosdarabkákra 50—100—150—200 mikrogrammot vittem fel a toloskálás nikropipettával, ez rendre 5,83, 11,66, 17,49 és 23,32 mikrogramm alfa-NH₂ nitrogénnek felel meg az aminosavösszetétel alapján (21). A szűrőpapíros szeletkéket megszáradásuk után felaprítottam, vizelet kémcsövekbe helyeztem és 2—2 ml *Martin* és *Mittelmann* (15) által leírt rézfoszfát szuszpenziót tartalmazó, vivő elektrolittal hoztam össze. A vivőelektrolit *Martin* és *Mittelmann* (5) szerint úgy készül, hogy 1,5 l deszt. vízben oldott 20 g Na₂HPO₄ · 12H₂O oldathoz 50 g CuCl₂ · 2H₂O oldatát adjuk keverés mellett, majd a pH-ját NaOH-dal 9,0-re állítjuk be. A csapadékot Büchner-tölcséren leszűrve 2%-os borax oldattal jól kimossuk, végül 2%-os boraxoldattal 1 literre feltöltjük. Ez az alapoldat korlátlanul eltartható. Az alapoldatból 5 ml-t, 1,70 Na₂HPO₄ · 2H₂O-t és 2 ml keményítő oldatot 2%-os boraxoldattal 1 literre töltünk fel. Tapasztalataim szerint hűtőszekrényben tároltan két hétig penészedés nélkül tartható el. Egy órán át többszöri felkeverés mellett hagytam az aminosoportokat a rézfoszfátra hatni. Centrifugálás után Novák-edénykébe öntve a tiszta aminosav-réz komplex vegyületeket tartalmazó oldatot, oxigénmentes N₂ árammal 4—5 perc alatt az oxigént eltávolítottam belőle. Ezután *Heyrovsky*-féle mikropolarográfal (galv. érz. 4×10^{-9} , 450 milliméter higanynivó, 3 másodperces csepegési idő, a teljes dobon 4 V feszültség 20 C° az oldatban levő rezet 0—0,8 V feszültségig felvéve a polarogrammot 1/10—1/20 érzékenységgel polarográfalt meg. A 2. ábra egy ilyen standard görbe céljait szolgáló polarogramm sorozatot mutat 1/20 érzékenység mellett felvéve. (A lépcsőmagasságokat az egyszerűbb értékelés céljából a galvanométer nulla vonalától mértem.) A párhuzamosan végzett meghatározások értékeléséből 10 mikrogramm alfa-amino-N esetében $\pm 3\%$ alatti standard hibát állapítottam meg.

Aminosav keverékek esetében a 0,44 alfa-amino-N/réz súly arány érvényességéről úgy győződtem meg, hogy 100 mikrogramm kazein aminonitrogén tartalmának, azaz 11,66 mikrogramm alfa-NH₂ N-nek megfelelő mennyiségű egyes aminosavakkal, tehát *Woiwod* szerint (22) különböző amino-N/réz

arányt mutató aminosavakkal külön-külön és kazein hidrolizátummal együtt reagáltatva határoztam meg a polarográfiás lépcsőket. Különböző arányú keverékek esetében az eltéréseket kiegyenlítő hatást tapasztaltam és az N/réz értékek a 0,44-et

Kazein hidrolizátum alfa-amino-N-réz lépcsője
4V. 1/20 érz. 20°C



2. ábra

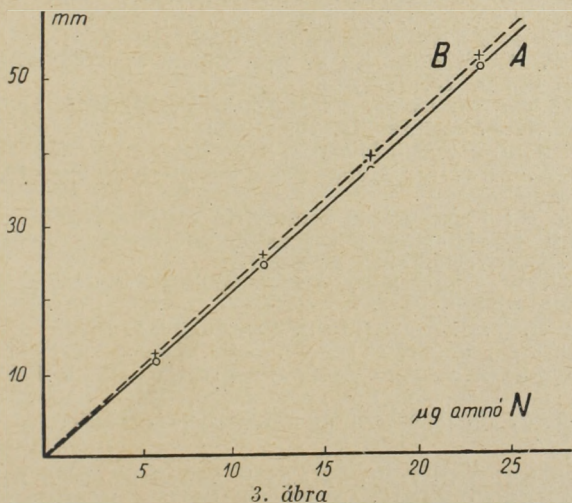
adták. Szemléltetésül a 0,44-értéktől nagymértékben eltérő két aminosavval kapott eredményeket az I. táblázat mutatja. Míg az egyes aminosavak rézkomplexei jelentősen különböznek, addig a kazein hidrolizátummal keverve megközelítőleg azonosak a lépcsők már a kazein hidrolizátumával. Az a tény tehát, hogy aminosav keverék esetében a 0,44 N/Cu arány érvényes, megegyezik *Spier* és *Pascher* (18) által más összeállítású és 7,4 pH-jú puffer esetében tett megállapítással.

I. táblázat

Aminosav	Összes alfa-amino-N	Polarográfiás lépcső mm	N/Cu $W_{O1} W_{OD}$ szerint
Aszparaginsav	11,66 mikrogr.	47,0	0,39
Alanin	11,66 mikrogr.	43,7	0,46
Kazein	11,66 mikrogr.	45,2	(\cong 0,44)
Kazein + aszp. s (1 : 1)	11,66 mikrogr.	45,3	
Kazein + alanin (1 : 1)	11,66, mikrogr...	45,4	
Kazein + aszp. sav + ... alanin (1 : 1 : 1)	11,66 mikrogr.	45,9	

Különböző eredetű 11,66 mikrogramm alfa-amino-N polarográfiás lépcsőjének nagysága ; galvanométer érzékenysége 1/20. A kazein hidrolizátum alfa-NH₂N mérésére úgy használ-

kató fel, hogy az ismeretlennel egyidőben készítjük el a standard görbét, amikor is a hőmérséklet és csepegő elektróda standardizálása mellőzhető. Ezt bizonyítja a 3. ábrában feltüntetett két standard görbe, melyek közül az A-val jelölt természetes kazein hidrolíziséből eredő aminosav keverék segítségével, míg a B-vel jelölt a természetes kazeinnak megfelelő arányban és mennyiségben összekevert kromatográfiásan tiszta aminosavak azonos koncentrációjú oldatával készült. Ebben a keverékben sem triptofán, sem pedig cisztin nem szerepelt, mert ezek a savas hidrolíziskor a természetes kazeinnél elbom-



3. ábra

lanak. A különböző módon elkészített alfa-NH₂N standard görbék gyakorlatilag azonosak, tehát tiszta kazein az alkalmazott hidrolízis és előkészítés után az elméleti értéknek megfelelő alfa-amino-N-t nyújtja és ezt ismeretlen töménységű aminosav hidrolizátumok meghatározására alkalmazhatjuk.

Az eljárással ezenkívül még szabad aminosavat tartalmazó oldatok aminonitrogénjének meghatározását is elvégezhetjük. Mint előzetes vizsgálatokból megállapítottam, fehérjehidrolízis folyamatok (pl. savas, enzimatis) pontos és gyors követésére is alkalmas.

Nagyon hasznos a módszer akkor is, ha pl. csak néhány miligramm fehérje áll rendelkezésre és azt kell pontosan meghatározni, illetve kromatográfiás eljárásnál a szűrőpapírosra felvinni.

- (1) *Henderson, L. M., Brickson W. L., Snel E. E* : J. biol. Chem. 172 31. 1947.
- (2) *Snel, E. R* : Advances in Protein Chemistry 2. 85. 1945.
- (3) *Stein W. H., Moore S* : J. biol. Chem. 178. 79. 1949.
- (4) *Petersen D. H., Reinecke L. M* : J. biol. Chem. 181. 95. 1949.
- (5) *Consden R., Gordon A. H., Martin A. J. P* : Biochem. J. 38; 224. 1944.
- (6) *Kofrányi E* : Hoppe Seilers Zeitschr. phys. Chem. 229 129. 1955.
- (7) *Fischer F. G., Dörffel H* : Biochem. Zeitschr. 324. 544. 1953.
- (8) *Van Slyke D. D* : J. biol. Chem. 83. 425. 1929.
- (9) *Van Slyke D. D. et al.* : J. biol. Chem. 141. 627. 1941.
- (10) *Mc Fadyen D. A* : J. biol. Chem. 153. 507. 1944.
- (11) *Virtanen A. J* : Nature 142. 754. 1938.
- (12) *Kober P. A., Sugiura K* : J. Am. Chem. Soc. 35. 1546. 1913.. J. biol. Chem. 13. 1. 1912.
- (13) *Pope C. G., Stevens M. F* : Biochem. J. 33. 1070. 1939.
- (14) *Woiwod A. J* : Nature 161. 169. 1948;
- (15) *Martin A. J. P., Mittelmann R* : Biochem. J. 43. 353. 1948.
- (16) *Rauen H. M. et al.* : Hoppe-Seiler's Zeitschr. phys. Chem. 284. 178. 1949.
- (17) *Lindner K* : Polarográfia, fotometria és természetes aminosav-standard alkalmazása fehérjeaminosavösszetétel meghatározásánál. Disszertáció. 1955 Budapest.
- (18) *Spier H. W., Pascher G.* : Hoppe-Seiler's Zeitschr. phys. Chem. 299. 112. 1955.
- (19) *Warner R. C* : J. Amer. Chem. Soc. 66. 1725. 1944.
- (20) *Cherbuliez E., Baudet P.* : Helv. Chim. Acta 33. 398. 1950.
- (21) *Greenberg D. M* : Amino Acids and Proteins. 105. o. 1951. Springfield.
- (22) *Woiwod A. J* : Biochem J. 42. XXVII. 1948.

I. УСТАНОВЛЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ АМИНО-АЗОТА В БЕЛКОВЫХ ГИДРОЛИЗАТУМАХ ПРИ ПОМОЩИ ПОЛЯРОГРАФА

К. Линднер

Автор на основе принципа Поп и Стивенс применил полярографическое определение комплекса аминокислота-медь для установления содержания альфа-амино-азота в белковых гидролизатах.

Воспроизводимость метода достаточна. При смесях аминокислот возможно применить 0,44 отношение альфа-амино-азот/медь. Квадратная ошибка определения при измерении 10 микрограммов аминокислота менше 3%-ов.

Стендартный диаграмм альфа-амино-азота возможно составить отдельно при каждом определении при помощи соответственно гидролизованного казеина, и таким образом излишним является стандартизирование условий определения.

Метод в первую очередь возможно применить для точного нанесения белковых гидролизатов на бумажной хроматограмм, но кроме этого возможно применить для определения содержания альфа-амино-азота в гидролизатах особенно малого количества белков, содержащих свободные аминокислоты (например биологи-

ческих растворов) и для контроля разных (кислотных, щелочных ферментных) гидролитических процессов на основе определения альфа-амино-азота.

EINSTELLUNG DER AMINO-NITROGEN KONZENTRATION VON EIWEISSHYDROLYSATEN MIT DEM POLAROGRAPH

K. Lindner

Verfasser hat mit Hilfe des Pope- und Stevens'schen Prinzips die polarographische Bestimmung des Aminosäurekupferkomplexes auf die Bestimmung der Konzentration von Alpha-Amino-Nitrogen in Eiweiss-hydrolysaten angewendet.

Die Methode ist gut reproduzierbar und bei Aminosäuregemischen kann das Verhältnis 0,44 Alpha-Amino-Nitrogen/Kupfer angewandt werden. Bei der Grössenordnung von 10 Mikrogramm Aminonitrogen ist der quadratische Fehler der einzelnen Messungen weniger als 3%.

Die Alpha-Amino-Nitrogen Standardkurve kann mit entsprechenderweise hydrolysiertem Casein von Fall zu Fall aufgestellt werden und dadurch erübrigt sich die Standardisierung der Messungsumstände.

Die Methode dient vor allem zur genauen Auftragung von Eiweiss-hydrolysaten auf Papierchromatogramme, ist jedoch ausserdem auch zur Bestimmung des Alpha-Amino-Nitrogengehaltes von freien Aminosäuren enthaltenden, z. B. biologischen Flüssigkeiten nach Hydrolyse der ganz geringen Menge von Eiweiss geeignet, wie auch zur Verfolgung verschiedener (saurer, enzymatischer) hydrolytischer Vorgänge mit Hilfe von Alpha-Amino-Nitrogen.

I. ADJUSTING THE CONCENTRATION OF AMINONITROGEN IN PROTEIN HYDROLYSATES BY POLAROGRAPHY

K. Lindner

Using the Pope and Stevens principle, the author applied the polarographic determination of the copper complexes of aminoacids for establishing the concentration of alpha-amino-nitrogen in protein hydrolysates.

The method proved reproducible and suited for use with amino-acid mixtures at a ratio alpha-amino-nitrogen: copper 0,44. At the order of magnitude of 10 micrograms of amino-nitrogen, the square error of measurements ranged below 3%.

The standard curve of alpha-amino-nitrogen may be established in each case by casein hydrolysed adequately. This way, no standardized conditions of measurements are necessary.

In first line, the method lends itself to the precise transfer of protein hydrolysates on paper chromatograms. However, it proved also suitable for the determination of alfa-amino-nitrogen in liquids (as biological samples) containing free aminoacids, tested after the hydrolysis of minute amounts of proteins, and further, to follow various processes of hydrolysis (acidic, enzymatic) by establishing the content of alpha-amino-nitrogen.

I^e — L'ÉTABLISSEMENT POLAROGRAPHIQUE DE LA CONCENTRATION DE L'AMINOAZOTE DES HYDROLYSATS ALBUMINEUX

K. Lindner

Appuyé au principe de Pope et Stevens, pour l'établissement de la concentration de l'alpha-aminoazote des hydrolysats albumineux, l'auteur a employé la détermination polarographique du complexe aminoacide-cuivre.

Ce procédé se reproduit aisément, et une proportion entre l'alpha-aminoazote et le cuivre, de la valeur de 0,44 y est applicable. Les erreurs des measurements pris isolés, étant de l'ordre de grandeur de 10 microgrammes de l'aminoazote, ne surpassent pas le 3%.

Chaque courbe standard de l'alpha-aminoazote isolée, se trace à l'aide du caseine convenablement hydrolysé, et par cela, la standardisation des conditions du measurement est superflue.

Cette méthode, applicable avant tout pour le tracement précis des hydrolysats sur des papiers à chromatogramme, est propre, de plus, pour le dosage des teneurs en alpha-NH₂-N des fluides, biologiques par exemple, contenant des aminoacides libres, comme aussi pour surveiller les processus divers hydrolytiques (p. ex. acidiques, enzymatiques) en y appliquant de l'alpha-aminoazote.

Aminosav kromatogrammok mennyiségi értékelése polarográffal.

LINDNER KÁROLY.

II. Az egyes aminosavak meghatározása egyszerű papíroskromatogramokon

Egy-egy aminosav polarográfiás meghatározásával már többen foglalkoztak. A tirozin, fenilalanin és triptofán mikro-mennyiségeire *Monnier* és munkatársai (1, 2, 3) dolgoztak ki módszereket. Valamennyi aminosavnak egy bizonyos közös tulajdonságon alapuló meghatározására nézve *Norton* és *Fürmannak* (4) ftálaldehides eljárása, amely papíroskromatográfiánál előforduló mennyiségeknél csak jelentősen nagyobb aminosavmennyiségekre alkalmas, továbbá *Martin* és *Mittelmännak* (5) *Pope* és *Stevens* (6) klasszikus aminosav rézkomplex meghatározásából kialakított eljárása ismeretes.

Utóbbit választottam kiindulásul, bár magában az eredeti cikkben is többféle nehézségre találni utalást. Így nem dolgoztak valamennyi-lehetséges aminosav együttes jelemlétében, igen nagy (40 cm²) papíros foltokat használtak fel, a folt kijelölést

segéd futtatások ninhidrinfoltjai segítségével végezték stb. Ezzel szemben nagy előnynek látszott az, hogy valamennyi kromatografálható aminosav közös tulajdonság alapján, a komplex réz polarográfiás mérése útján, csekély aminosavmennyiségek esetében is nagy pontossággal meghatározható. Erre *Jonesnak* (7) előadásában tett megállapításai, melyeket a rézaminosavkomplexe polarográfiás redukciójáról mondott el, úgyszintén felhívják a figyelmet. A szükséges nagy galvanométer-érzékenység mellett a réz polarográfiás hullámánál jelentkező oxigénmaximum megszüntetésére az oxigénnek inertgázzal való eltávolítását javasolja a szerző. Míg ezzel a referátummal csaknem egyidőben megjelent *Martin* és *Mittelman* (5) dolgozat pedig az oxigén mentesítés elérésére Na_2SO_3 alkalmazását javasolja. Ezért a különböző tisztázatlan kérdések vizsgálata előtt ezt is tanulmány tárgyává tettem.

Vizsgálatok az oxigénmaximum elnyomására

A vizsgálatokat a rézfoszfát szuszpenzió vivőelektrolittal, annak „vakréz” értékének mérésével végeztem. „Vakréz” kifejezés alatt azt az oldatban levő rézkoncentrációt értem, mely a gyakorlatilag oldhatatlannak mondott rézfoszfáttal az adott körülmények között egyensúlyban van. E csekély rézmennyiség polarográfiás hullám változásából a jelenségek jól megfigyelhetőknek látszottak.

2—2 ml rézfoszfát vivőelektrolit szuszpenzió centrifugálásával nyertem a tiszta „vakréz” oldatot.

A vivőelektrolit *Martin* és *Mittelman* szerint korábbi közleményemben (8) leírt módon készült.

Az oxigénmaximum elnyomásához használt Na_2SO_3 Merck pro anal. készítmény volt, míg az inert gáznak használt nitrogént lúgos pirogallollal szabadítottam meg az oxigén nyomaitól. (A lúgos pirogallolt úgy készítjük, hogy 250 g KOH-t és 50 g pirogallolt 1 liter deszt. vízben oldunk fel.)

A kétféle oxigénmaximum elnyomó eljárással a centrifugáltumban felvett polarográfiás lépcsőmagasságokat, melyet az összalfa-aminonitrogén meghatározásához hasonlóan (8), alapvonal segítségével mértem meg, az 1. táblázat tünteti fel.

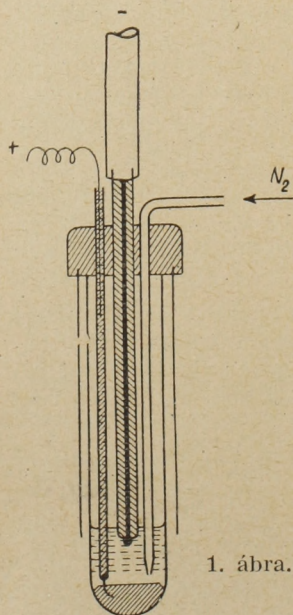
A „vakréz” hullám változás az idő függvényében a kétféle maximumelnyomás esetében.

Idő (perc)	„Vakrész” hullám magas sága mm (1)5 érz.	
	N ₂ bevezetésekor	4 mg Na ₂ SO ₃ -al
2	—	14,0
3	13,0	15,0
5	13,1	21,0
7	13,0	24,0
10	13,2	25,0
15	13,0	—
25	13,0	27,0

Tehát a „vakrész” lépcső magasságok összehasonlításából kitűnik, hogy csak a nitrogén gáz esetében kapunk megnyugtató állandó értékeket, míg Na₂SO₃ esetében az értékek változnak, emelkednek. A táblázat arra is utal, hogy 3 perces intenzív nitrogén gáz átáramoltatása után már állandó, jól reprodukálható eredményt kapunk.

Szulfit használata ezek szerint a vizsgálatainkban szükséges 1/2, 1/5 galvanométer érzékenység mellett nem lehetséges, mert a fokozatosan oldatba menő higany megnöveli a rézlépcsőt. Heyrovsky (9) előírja, hogy a Na₂SO₃ hozzáadás a Hg fenékelektroda beöntése előtt kell, hogy megtörténjen, mert különben az oldatban még benne levő oxigén hatására a higany egy része komplex formában oldatba mehet. A nagyszámú sorozatvizsgálatok elvégzésénél sem az említett eljárást, sem pedig az ilyenkor szokásos elválasztott elektród alkalmazását nem lehet keresztülvinni. Egyetlen biztonságos módszer az inert gáz pl. N₂ alkalmazása.

A drága és kényes Novák-edény helyett az 1. ábra szerinti megoldást vezettem be. A polarográfiás edény 18×180 mm-es jénai kémcsövek alsó 70 mm-es levágott része háromfuratos gumidugós üvegharanggal leborítva. Ilyen kémcsövek alkalmazása olcsóságuk mellett jelentős hi-



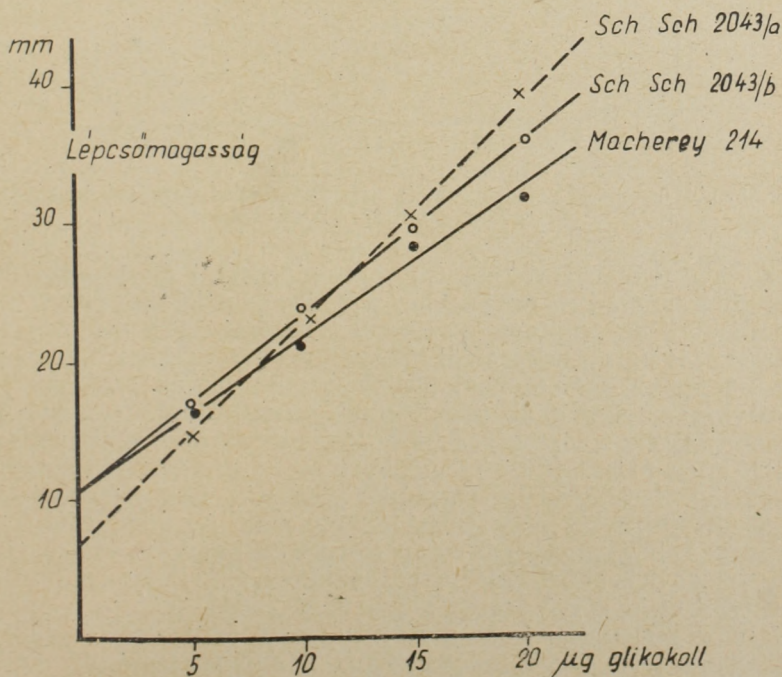
1. ábra.

ganyemegtakarítást is jelent, mert a Novák-edény minimális higanyszükségletének harmada, 10 g Hg is elegendő egy méréshez. Ez pedig a higany ritkább tisztítását és munkamegtakarítást is jelent egyuttal.

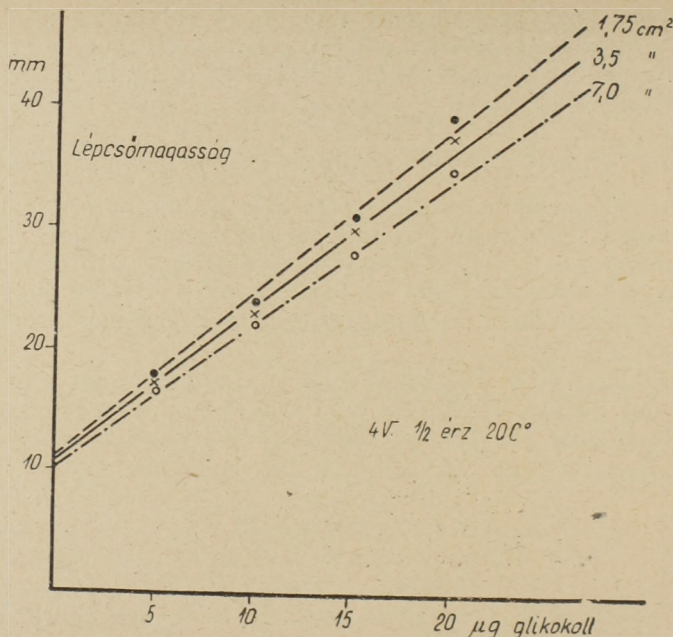
A szűrőpapiros szerepe a polarográfiás lépcső kialakulásában

A különböző méretűre szétterjedő kromatográfiás aminosavfoltok — erre saját diffúziós megfigyelések mellett, Fischer (10) anyag-mennyiség és foltnagyság összefüggési törvényszerűsége is felhívta a figyelmet — a szűrőpapiros szeletek nagyságának a polarográfiás hullámra gyakorolt befolyásának vizsgálatát szükségessé tette.

Glikokoll modell segítségével az általunk használt Schleicher et Schüll 2043/a, 2043/b és a Macherey—Nagel 214-es szűrőpapirosok 3,50 cm²-es nagyságú szeletkéire helyezve az előző



2. ábra. A szűrőpapír minőségének hatása a lépcsőmagasságra.



3. ábra. Különböző méretű Sch. et Sch. 2043/b szűrőpapírok szerepe a polarografiás hullám kialakulására

cikkben már ismertetett (8) mikropipettával 5—10—15—20 mikrogrammnyi mennyiségeket a 2. ábrában feltüntetett standard görbéket kaptam. Ezenkívül végeztem olyan meghatározásokat is ugyancsak a fenti glikokoll mennyiségekkel, amikor a szűrőpapíros Sch. et Sch. 2043/b papírosnak az 1,75, 3,5 és 7,0 cm²-es darabkái jelenlétében reagáltattam a glikokoll mennyiségeket a szokásos 2—2 ml vivőelektrolit szuszpenzióval. Ezek polarografiás eredményét a 3. ábra standard görbéiben figyelhetjük meg. Végeredményben a 2. és 3. ábra alapján megállapítottam, hogy a szűrőpapírosnak jelentős befolyása van az i_d -re, azaz végső soron a lépcsőmagasságra. Ha alapvesszük a Sch. et Sch. 2043/a szűrőpapírost, akkor már a nagyobb négyzetméter súlyú azonos alapanyagú 2043/b papíros is csökkenti a magasságot, sőt a még nagyobb négyzetméter súlyú Macherey—Nagel 214-es papírosnál 20 mikrogramm glikokollnál már 15%-os a lépcsőmagasság csökkenése. Az eredményeket a II. táblázatban állítottam össze.

A 20 mikrogramm glikokoll hullámmagasságának csökkenése különböző m² súlyú szűrőpapírosok alkalmazásakor

II. táblázat

Papírosfajta	Súly/m ²	20 mikrogramm glikokoll mm lépcsőmagassága
Sch. et Sch. 2043/a	80 g	39,1
Sch. et Sch. 2043/b	120 g	39,1
Macherey-Nagel 214.....	150 g	32,1

A lépcsőcsökkenésnek nagyobb papíros mennyiségeknél kétféle oka lehet. Egyik az, hogy a szűrőpapíros adszorbeál a réz-komplexből. Ebben az esetben azonban adott papíros mennyiségekkel felvett standard görbe nem egyenes lenne, hanem a kis aminosav mennyiségeknél viszonylag nagyobb lépcsőmagasság csökkenést kapnánk és így a görbe torzulna. Ilyen torzulást sem a különböző nagyságú, sem pedig a különböző fajtájú szűrőpapírosoknál nem lehetett tapasztalni.

A másik oka a lépcsőmagasság csökkenésnek a kolloid vagy egyéb felületi aktív anyagok befolyása lehet. Az eredeti lépcsőmagasságot természetesen már az áramfeszültségi görbén a réz levalásával jelentkező maximum megszüntetésére a vívőelektrolitba alkalmazott 0,01% keményítőoldat is csökkenti. *Stackelberg* (11) szerint ugyan egyedül a viszkozitás növekedése nem adhatja meg annak a hatásnak a megoldását, amely a lépcső nagyság csökkenésében nyilvánul meg, mivel lehetőség van arra is, hogy a kolloid részecskéket a depolarizátor adszorbeálja és a diffúziót ily módon is akadályozza. *Dratovszky* és *Ebert* (12) Cd, Cu, Pb, Zn, Bi kationoknak, zselatin és timol jelenlétében történő levalását vizsgálva a diffúziós áram csökkenése mellett még több tényezőre térnek ki, amelyek az elektrokapilláris nullapont területére vannak a legnagyobb hatással. *Käärík* (13) közli cikkében azt, hogy a redukálható ion konstans koncentrációja mellett a lépcsőmagasság, azaz diffúziós áram (i_d) szokás szerint csökken, ha a vívőelektrolit koncentrációja, vagy viszkozitása, η , nő. *Scholander* (14) a viszkozitás szerepének tisztázására végzett vizsgálataival kapcsolatban megállapítja, hogy ideális esetben a diffúziós áram és a viszkozitás viszonyára az *Ilkovic* és *Stokes—Einstein* egyenletből az az összefüggés vezet-
hető le, hogy

$$D = k' \cdot \eta^{-1} \text{ (Stokes—Einstein)}$$

$$i_d = k \cdot D^{1/2} \text{ (Ilkovic)}$$

tehát $i_d \cdot \eta^{-1/2} = \text{konst}$, vagy másképpen írva $i_d = K \cdot \eta^{-1/2}$

Esetünkben a vivőelektrolit koncentrációjának megváltozásáról nem lehet szó, csupán csak arról, hogy a szűrőpapírosból a lúgos 9,5 pH-jú pufferoldat hatására a celluloze rostok felületéről kolloid anyag oldódik ki és így megmagyarázható a nagyobb papíros mennyiségek esetén az erősebb lépcsőmagasság csökkenés is.

A fenti egyenletből az is következik, hogy konstans viszkozitás vagy mondhatjuk úgy is, hogy azonos szűrőpapíros felületek alkalmazásakor a standard görbéknek egyeneseknek kell lennie. A 2. és 3. ábra az általam vizsgált aminosav nagyságrendben ezt igazolta. Meg kell jegyezni azonban végezetül azt, amire *Scholander* főleg nagy molekulásúlyú anyagoknál mutat rá, hogy a diffúzió és a viszkozitás között az összefüggés nem ilyen egyszerű, hanem több tényező még befolyásolja. Ilyenek pl. az adszorpció, komplex képzés, thixotropia, melyek a mozgó ionra fejtenek ki hatást.

Így a pufferozatlan szűrőpapírosokkal végzett vizsgálatok fényt derítettek arra, hogy a különböző fajta szűrőpapírosok, főleg a m^2 súlytól függően, valamint az azonos fajta, de eltérő nagyságú szűrőpapírosok is jelentősen befolyásolhatják a polarográfiás lépcső nagyságát. Ezért a standard görbék és az ismeretlen aminosavak mérésénél vigyázni kell arra, hogy a kivágott-szűrőpapíros szeletek azonos méretűek (területűek) legyenek. Megjegyzem, hogy *Magyarné* (15), aki cukorgyári melasz aminosavainak meghatározására rézkomplexeknek savanyú közegben történő polarográfiáját alkalmazta és az aminosavaknak papírosból való kivonására előzetes forróvizes extrakciót alkalmazott, nem észlelt az általa alkalmazott galvanométerérzékenység mellett lépcső csökkentő hatást.

Modell vizsgálatok aminosavakkal

Az egyes aminosavak standard görbéinek felvételével nem lehet egyszer s mindenkorra a gyakorlati sorozatvizsgálatoknál mérésre felhasználható alapgörbéket készíteni, mert igen sok tényezőt kellene ebben az esetben a kromatográfiától kezdve a polarográfiás mérés befejezéséig rögzíteni. Ez pedig szinte lehetetlen.

Ezért modell vizsgálataimból az egyes aminosavakra nézve

standard görbéket nem adok meg, hanem csak a 2. és 3. ábrában feltüntetett glikokollra utalok, amelyből az ilyen típusú standard görbékről képet lehet alkotni.

A mérések reprodukálhatóságára nézve pedig szűrőpapíron keresztülvitt modellvizsgálataim eredményeiből a III. táblázatban feltüntettem az egyes mérések négyzetes eltérését (aminósavanként 10—10 mérést végezve), 10 mikrogramm nagyságrendben, amely papíroskromatogrammnál a várható legelső mennyiség.

A második oszlopban található értékeket az újabban, papíroskromatográfiára leggyakrabban használatos Bode (15)-féle aminosav-ninhidrin-réz színes vegyület fotometriás mérésével kaptam.

III. táblázat

Aminosav	10 mikrogramm mérése esetében az egyes mérések négyzetes eltérése mikrogrammban	
	polarográffal	fotométerrel
Alanin	0,75	1,2
Arginin	0,55	2,9
Aszparaginsav	1,15	3,55
Glikokoll	1,3	0,55
Glutaminsav	0,8	3,4
Hisztidin	1,3	1,25
Izoleucin	2,5	3,35
Leucin	1,55	4,25
Lizin	1,65	1,7
Metionin	0,4	0,65
Prolin	0,7	nem mérhető
Fenilalanin	1,4	0,9
Szerin	0,8	1,2
Tirozin	1,1	2,25
Treonin	0,7	1,25
Valin	0,95	1,5

A táblázatban jól látható, hogy a polarográfiás eljárás csaknem kivétel nélkül a fotometriásnál jelentősen pontosabb mérési lehetőséget nyújt az említett kis nagyságrendben.

E mérésekkel sikerült ezenkívül azt is megállapítani, hogy a Martin és munkatársa által nem vizsgált alanin, hisztidin, izoleucin, lizin, metionin, szerin, tirozin, treonin aminosavakra is jól alkalmazható a polarográfiás módszer. Megjegyzendő, hogy a fehérjékben a vizsgált 16 aminosavon kívül rendszeresen előfordul a cisztin és a triptofán. Ezekkel azért nem folytattam modellvizsgálatokat, mert papíros kromatográfiás eljárással való

meghatározásuk nem jöhet szóba, mivel savas hidrolízisnél részben vagy teljesen elbomlanak. Meghatározásukról más módszerrel kell gondoskodni.

A gyakorlatban keresztülvitt papíroskromatográfiás eljárásnál úgy járunk el pl. a klasszikus butanol-ecetsav-víz oldószer esetében, hogy a kifejlesztett kromatogramot megszáritva 10 percre 100 °C hőmérsékletű szárítószekrénybe helyezzük és utána analitikai kvarclámpa alá helyezzük. Ilyenkor a hő hatására az aminosavak és a papíros között olyan folyamat játszódik le, amelynek eredményeként az aminosav foltok helye ultraibolya fényben lumineszkálóvá válik. Puha grafit ceruzával a foltokat a láthatónál 3—4 mm-rel nagyobb környezetükkel együtt, kijelölve bizonyosak lehetünk abban, hogy a foltok diffúzabb részei is meghatározásra kerülnek. Az így kivágott foltok aminosav tartalmát (összehasonlítások esetében közel azonos területeket vágjunk ki!) az össz-alfa-amino-N vizsgálótoknál leírt módon határozzuk meg (8). A kis rézkoncentráció miatt 10⁻⁹ nagyságrendű galvanométer érzékenységnél a felvételeket megfelelő kompenzálás alkalmazása mellett 1/2—1/5 érzékenységgel beállítása mellett szükséges elvégezni.

IRODALOM

- (1) Monnier D., Rusconi Y : Helv. Chim. Acta 34. 1297. 1951.
- (2) Rusconi Y., Monnier D., Wenger P. E : Helv. Chim. Acta 34. 1943. 1951.
- (3) Besso E., Monnier D., Wenger P. E : Anal. Chim. Acta 7. 286. 1952.
- (4) Norton D. R., Furmann N. H : Analyt. Chem. 26. 1116. 1954.
- (5) Martin A. J. P., Mittelmann R. : Biochem. J. 43. 353. 1948.
- (6) Pope C. G., Stevens M. F : Biochem. J. 33. 1070. 1939.
- (7) Jones S. G : Biochem. J. 42. LIX. 1948.
- (8) Lindner K. : Élelmiszervizsg. Közl. III., 145, 1957.
- (9) Heyrovsky J. : Polarographie 1941. Wien. Springer Verlag.
- (10) Fischer R. et al. : Nature 161. 764. 1948.
- (11) Stackelberg M. : Polarographische Arbeitsmethoden. 1950. Walter de Gruyter et Co. Berlin.
- (12) Dratovsky M., Ebert M. : Sborník I. Mezanarodniho Polarografickeho Sjezdu Cast. III. 410. 1952.
- (13) Käärik Keljo : Radiometer polarographics. 2. (III). 890. 1953.
- (14) Scholander A. : Sborník I. Mezanarodniho Polarografickeho Sjezdu v Praze. Díl. I. 260. 1951.
- (15) Magyar Károlyné : Cukoripari Kutató Intézet Közleményei. 1955. 1. füzet. 36. old.
- (16) Bode F. et al. : Naturwiss. 39. 524. 1952; Experientia 9. 271. 1953.

II. ОПРЕДЕЛЕНИЕ ОТДЕЛЬНЫХ АМИНОКИСЛОТ НА ПРОСТОМ БУМАЖНОМ КРОМАТОГРАММЕ

К. Линднер

При помощи моделей автором объяснялись трудности полярографического определения комплексов аминокислота-медь, разделенных на бумажном хроматограмме.

Для отстранения максимума кислорода, практически наиболее подходящим является применение инертного газа.

Установлено, что в зависимости от веса квадратного метра хроматографической бумаги, величина лестниц изменяется ввиду растворения поверхность-активного вещества (коллоидов) из бумаги.

При сопоставлении обыкновенного спектрофотографического и полярографического определения аминокислот, возможно установить, что последний метод более точный при определении 10 микрограммов аминокислот. Означенные пятна аминокислот осуществляется в У. В. свете после нагревания до 100 °C.

II. DIE BESTIMMUNG DER EINZELNEN AMINOSÄUREN AUF EINFACHEN PAPIERCHROMATOGRAMMEN

K. Lindner

Verfasser hat vermöge von Modellprüfungen die Schwierigkeiten der polarographischen Bestimmung der auf Papierchromatogrammen getrennten Aminosäurekupferkomplexen klargestellt.

Zur Abschaffung des eintretenden Oxygenmaximums ist in der Praxis inertes Gas am geeignetsten. Es hat sich erwiesen, dass je nach dem Quadratgewicht der chromatographischen Filterpapiere die Stufengrösse von der sich aus dem Papier herauslösenden oberflächenaktiven Substanz (Kolloid) beeinflusst wird.

Mit der gewohnten spektrophotometrischen Bestimmungsweise verglichen besitzt die polarographische Aminosäurenbestimmung den Vorteil, dass sie im allgemeinen in der sich auf dem Filterpapier befindlichen Grössenordnung von 10 Mikrogramm Aminosäure viel genauere Resultate liefert.

Die Festlegung der Aminosäureflecke geschieht nach Erhitzen des Papiers auf 100 C° im ultravioletten Lichte.

II. DETERMINATION OF AMINOACIDS IN SIMPLE PAPER CHROMATOGRAMS

K. Lindner

Difficulties encountered at the polarographic determination of the copper complexes of aminoacids separated in paper chromatograms were studied by the author with the use of model investigations.

To suppress the oxygen maximum observed, the use of an inert gas proved practically best suited. It was stated that the height of wave is affected in correlation with the weight of the square unit of chromatographic filter papers, due to extraction of surface active substances (colloids) from the paper.

The comparison of the conventional spectrophotometric deter-

mination with the polarographic assay of aminoacids showed that the latter appreciably exceeds the former in accuracy when determining aminoacid amounts in filter papers in the order of magnitude of 10 micrograms.

The aminoacid spots were observed in ultraviolet light, subsequent to heating the paper strips to 100° C.

II^e — L'ÉTABLISSMENT DE CERTAINS AMINOACIDES SUR LES PAPIERS Á CHROMATOGRAMME SIMPLES

K. Lindner

L'auteur, par d'analyses sur modèles, a éliminé les difficultés de l'établissement polarographique des complexes du cuivre des aminoacides séparés sur des papiers à chromatogramme.

Pour l'élimination du maximum d'oxigène, en pratique, le gaz inerte se présente le plus propre. La limitation de la grandeur de l'échelon, en relation avec le poids par mètre carré du papier filtre chromatographique, causée par l'agent soit colloïde, naissant par la solution superficiel du papier, est établie par l'auteur.

L'établissement polarographique de l'aminoacide, comparé à l'établissement spectrophotométrique ordinaire, ce dernier, en général, se prouve plus exact dans cet emploi, s'il est de l'ordre de 10 microgrammes de l'aminoacide sur le papier filtre.

Aminosav papiroskromatogrammok mennyiségi értékelése polográffal.

III. Vizsgálatok fehérje hidrolizátumnak pufferezott szűrőpapiroson végzett elválasztásával

LINDNER KÁROLY

Nagyszámú, 18—20 aminosavból álló fehérje hidrolizátum egyes aminosavainak tökéletes elválasztására több módszer kínálkozik. Egyetlen papiroson két dimenziós eljárással kaphatók meg az egyes aminosavak (1). Ez a módszer kvalitatív és vizuális megítéléssel szemikvantitatív megállapításra kitűnően alkalmas, azonban pontos mennyiségi meghatározáshoz a hosszú ideig tartó és kétirányú futtatás miatt az egyes aminosavak veszteségei nem korrigálhatók, mert ugyanazon papiroson kontrollt futtatni az aminosav pályák keresztezése miatt nem lehet.

Az egy dimenziós kromatográfia lehetővé teszi a kontroll, azaz a standard aminosav összetételű keverék egyidejű elválasztását. Az egydimenziós papiroskromatográfia keresztülvitelére kétféle eljárás használható. Az egyik azt az elvet alkalmazza, hogy az oldószerek összeállítását változtatja úgy, hogy

azok az aminosavak, amelyek nem válnak el az első kromatogrammon, azok a második vagy harmadikon biztos elválasztást nyerjenek. Ilyen eljárást alkalmazott *Bentley* és *Whitehead* (2) is. Hátránya, hogy nem olyan élesek az elválasztások, különösen a bázikus aminosavak esetében. A *McFarren* (3) rendszerű pufferezott papíroskromatográfia a másik módszer az egy dimenziós kromatográfia keresztülvitelére, mely azon az elven alapszik, hogy az oldószerek változtatásán kívül a szűrőpapíros pufferezésnek az aminosavak Rf-értékére gyakorolt nagymértékű hatását is igénybeveszi, mellyel a megfelelő éles elválasztás lehetséges.

Hazai kromatográfiai tanulmányok, melyeket *Jaschik Sándor* (4) végzett, a *McFarren* eljárás számos előnyét igazolták, ezért a nagyszámú aminosavból álló fehérje hidrolizátumok kvantitatív célokra történő szétválasztására is ezt alkalmaztuk. Az alkalmazás felvetése azonban egyidejűleg azt is jelentette, hogy a *Pope* és *Stevens* (5) eljárás polarográfiai mikro kivitelével a puffer hatások jelentőségét igen komolyan vizsgálat tárgyává kellett tenni.

I. táblázat

Aminosav	Alfamino-N/réz			
	WOIWOD (6)		ATKINS-PANTIN puffer (7) átlagértékek	
	pH 9,1	pH 7,4	pH 9,3	pH 11,8
Hisztidin	0,25	0,34	0,30	0,76
Hidroxiprolin	0,38	—	—	—
Aszparaginsav	0,39	0,37	—	—
Szerin	0,40	0,42	0,35	0,69
Treonin	0,40	—	—	—
Valin	0,41	—	—	—
Leucin	0,41 ₄	—	—	—
Izoleucin	0,41	—	—	—
Glutaminsav	0,42	0,41	0,38	0,28
Metionin	0,42	—	—	—
Aszparagin	0,43	—	—	—
Glikokoll	0,43	0,38	—	—
Tirozin	0,43	—	—	—
Arginin	0,44	—	—	—
Fenilalanin	0,45	—	—	—
Cisztin	0,45	—	—	—
Triptofán	0,46	—	—	—
Glutamin	0,46	—	—	—
Alanin	0,46	0,44s	—	—
Prolin	0,48	0,45	0,37	0,84
Lizin	0,52	—	—	—

Erre elsősorban azért volt szükség, mert ugyan *Woiwod* (6) a *Pope* és *Stevens* eljárásnál alkalmazott kb. 9,1 pH-jú rézfoszfát borax puffer elegendő esetére megállapította az egyes aminosavakra jellemző alfa-amino-nitrogén: réz arányt, azonban *Spier* és *Pascher* (7) vizsgálatai eltérő pH-jú és összetételű puffer keveréknél igen jelentős eltérést mutatnak, olyanokat, amelyek sok esetben már meg sem közelítik az elméleti két atom aminos-nitrogén: egy atom réz arányt. Az I. táblázat ennek szemléltetésére tüntet fel adatokat.

Szükségesnek látszott elsősorban az alappuffer keverék pH-jának függvényében vizsgálatokat végezni, bár az előző közleményeimben (8, 9) mind az aminosav keverékekre, mind pedig az egyes aminosavakra nézve a kb. 9,1 pH-jú puffernek alkalmazhatóságát már megállapítottam.

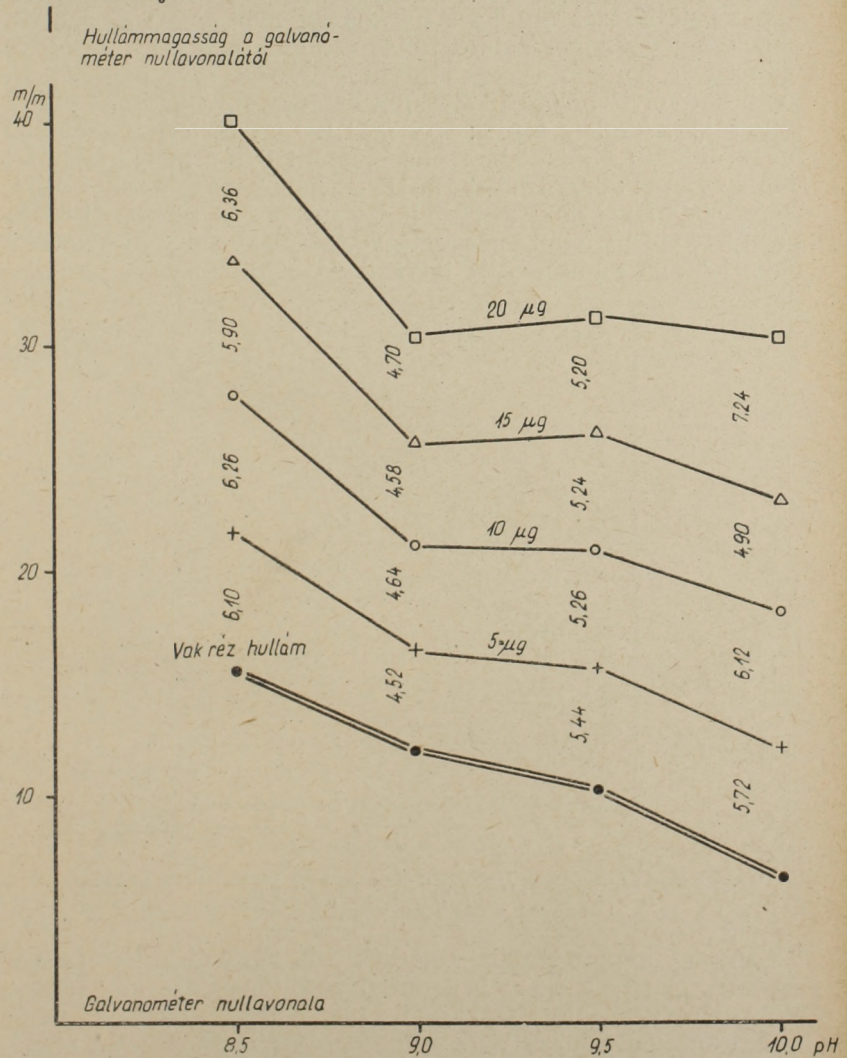
A rézfoszfát szuszpenzió pH-jának befolyása a polarográfiás lépcsőre

Az eredeti *Pope* és *Stevens* puffer keverékből olyan módosításokat készítettem, hogy 8,5, 9,0, 9,5, 10,0 és 11,0 pH-jú keverékek álljanak rendelkezésre. Ezt úgy értem el, hogy *Metrohm*-rendszerű üvegelektrodás pH-mérővel ellenőrizve a magasabb pH-értékeket hozzáadott NaOH-val, a 9,0-nél alacsonyabbakat csekély H_3PO_4 -el állítottam be. Nagyobb mennyiségű foszfátiont bevinni nem ajánlatos, mert a rézfoszfátból alig oldódik ionos állapotú réz, tehát a komplex keletkezése erősen gátolt.

A vizsgálatok eredményét a glikokoll modellel demonstrálom. A meghatározások körülményei a pH változásán kívül azonosak voltak az előző közleményeim modellvizsgálataival (8, 9). A felvitt 5—10—15—20 mikrogramm glikokoll 2043/b papirosnak 3,5 cm²-es darabkáin helyezkedett el. Az eredményeket az 1. ábra tünteti fel.

Jól látszik, hogy a szórás a két szélső pH esetében a legnagyobb, bár 10 pH-nál és az ezzel csaknem teljesen azonos eredményt adó s ezért az ábrában fel sem tüntetett 11 pH-nál a 20 mikrogramm glikokoll hullámának már csaknem egy ötödét teszi ki a „vakréz” érték. A 9,0 és 9,5 pH-n azonban kisebbek a szórások, a lépcsőmagasság emelkedés egyenletesen arányos a koncentrációval. A 9,5 pH-jú puffert az teszi legalkalmasabbá, hogy ennek kisebb a „vakréz” értéke, ezzel szemben rézlépcső nagysága nagyobb ugyanazon mennyiségeknél, mint a 9,0 pH-nál. A továbbiakban, így a gyakorlatban keresztülvitt vizsgálatoknál ilyen pH mellett folytatók a meghatározásokat. Ez a 9,5 pH-jú puffer keverék úgy készül, hogy a 2%-os boraxos

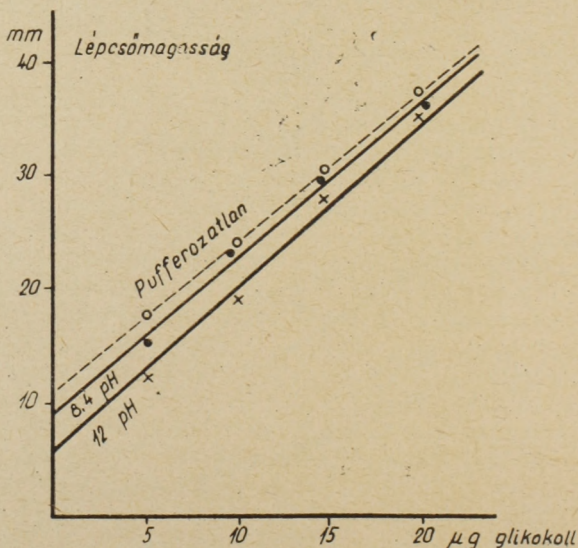
rézfoszfát szuszpenzió pH-ját a szükséges Na_2HPO_4 , keményítő és boraxoldat hozzáadása után, 10%-os NaOH-dal pontosan beállítjuk.



1 ábra. Glikokoll palatografikus hullámai (20°C) különböző pH-ju rézfoszfát vívőelektrolit 4v 1/2 erő, esetében

Pufferozott szűrőpapirossal végzett vizsgálatok

A bevezetésben említett McFarren (3) rendszerű szűrőpapiros pufferozás általános hatásainak megismerésére szintén glikokollal végeztem polarográfiás meghatározásokat. A körülmények a fentebb leírtak voltak. A 2043/b szűrőpapirost az aminosav felvitel előtt az általunk használt 8,4 illetve 12 pH-jú pufferozatokkal (8,4 pH : 4,14 g H_3BO_3 -at és 5 g KCl-ot 100 ml-re oldunk, ebből 50 ml-hez 8,55 ml 0,067 mólos NaOH-t adunk. 12 pH : 0,067 mólos Na_2HPO_4 -ból 50 ml-t összekeverünk 50 ml 0,067 mólos NaOH-dal) itattuk át és megszáritottuk. Kontrollképpen a butanol-ecetsav-víz futtatásnak megfelelően pufferozatlan papirossal is történtek meghatározások.



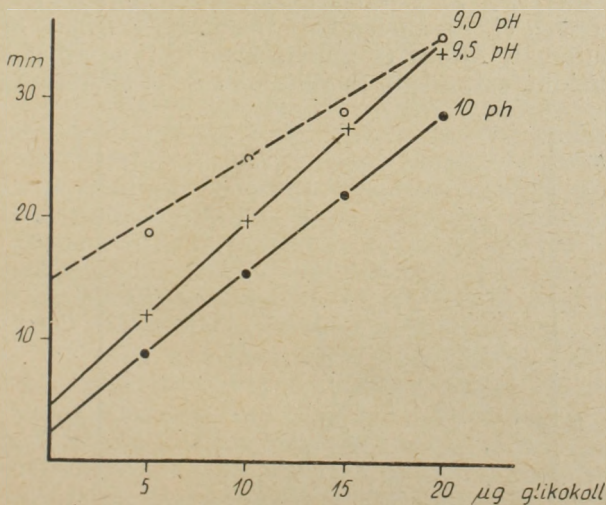
2. ábra. Különböző pufferozású Sch. et Sch 2043/b szűrőpapirossal készült glikokoll standard görbék.

Az így kapott standard görbék a 2. ábrából láthatóan azt mutatják, hogy a 8,4 pH-ra pufferozott papirossal alig térnek el az értékek a pufferozatlantól, de a 12 pH-jú papirossal meghatározott glikokoll értékek jelentősen kisebbek.

Ez a megfigyelés a következőképpen magyarázható. A 8,4 pufferozást borít pufferral végezzük és alig 1 pH-val tér el a

komplexbéjeléshez használt rézfoszfát vivőelektrolit pH-jától. Ezenkívül a foszfát ion koncentrációt sem növeli meg, tehát nem is várható, hogy a diffúziós áramot, azaz a polarografiás lépcsőt jelentősen befolyásolja. Ezzel szemben a szűrőpapirosba felitatott mennyiségű 12 pH-jú puffer, amelynek OH-aktivitása igen tekintélyes, egyik puffer komponensként Na_2HPO_4 -et tartalmaz, megnöveli a rézfoszfát puffer pH-ját és a foszfát ionok koncentrációját, ami természetesen a már ismertetett módon csökkenti a réz diffúziós áramát.

Az előző közleményemben már rámutattam arra, hogy a diffúziós áramot csökkentheti a pH változás hatására megnövekedő viszkozitás, de csökkentheti az amino-N réz arányának a pH-tól és ionmiliótól függő megváltozása is. A viszkozitás hatása nem valószínű, sőt ki is zárható, mert igen kis 9–10 pH sávon belül ellentétes irányú megváltozás is tapasztalható, mint azt a 3. ábra mutatja.

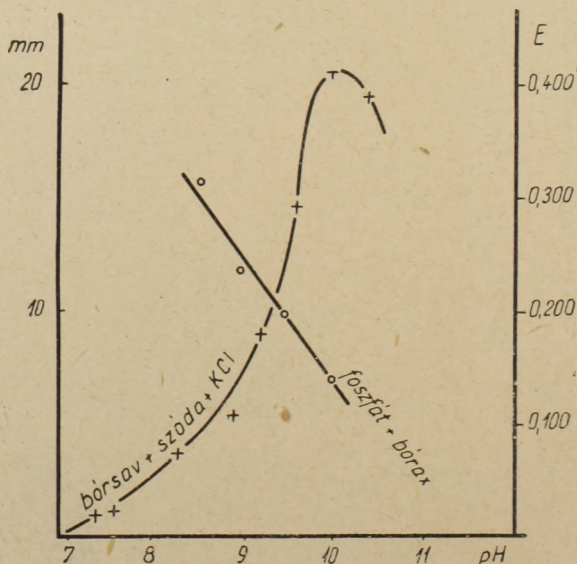


3. ábra. A pH hatása a standard görbék kialakulására

Ezzel szemben nagy lehetősége van a réz-aminosav arány változásainak. Ez már a bevezetőben közölt I. táblázatban világosan látható. Megemlítendő még Borsok és Thieman (11) glikokollal és alaninnal végzett kísérletsorozata is, melyben a pH-tól függő sztöchiometrikus N/Cu arányt vizsgálta. Kísérleti körülményeik között CuAl_2 , Cu_2Al_3 , CuAl_3 , CuAl_5 sztöchiometrikus

összetételnek megfelelő arányt mutattak ki. *Spier* és *Pascher* említett munkájukban megállapították, hogy a Cu^{II} kation és különböző aminosavak keveréke esetében a kötések kihasználásának átlaga a normális 4 koordinációs számnál marad. Ezt igazolták saját vizsgálataim is (8). De véleményük szerint, ha a réznek csupán csak egy fajta komplexképző partner áll a rendelkezésére, akkor ellenére, hogy az amino-N-réz komplex képződésére az aminosav és a réz kation között az optimális geometriai arányok, illetve az elektrosztatikus alapok 2 : 1 arányban vannak meg, mégis csak a mindenkori pH-tól és egyéb környezeti hatástól függő arány áll elő. Ez azt jelenti, hogy a CuAl_2 összetételű komplex mellett még más összetételű mellékkomplexek is keletkeznek, amelyek az amino.N : réz arányának az elméleti 0,44-től való eltéréseért felelősek.

Woiod (6) részletesen megállapította — *Pope* és *Stevens*-féle rézfoszfát puffer szuszpenzió alkalmazásánál a gyakorlati értékeket, melyeket az I. táblázatban láthatunk. Mások, mint pl. *Li* és *Doody* (12) fenilalaninát, treoninát, szerinát, arginin, lizin és glutamát, *Miura* és munkatársai (13) pedig glikokoll, alanin, hisztidin, aszparagin és glutaminsavval megállapították,



4. ábra. Különböző pufferkeverékek és a rézfoszfátból oldott u. n. vakrész mértéke

hogy az aminosav komplexek összetétele CuA_2 -nek felel meg, ha az aminosav a rendszerben feleslegben van. Saját vizsgálatainknál éppen fordított a helyzet, mert a papíros kromatogramokon megkapott korlátozott mennyiségű aminosavat maradéktalanul kell reagálni a feleslegben levő rézfoszfát szuszpenzióval, tehát valamilyen módon figyelembe kell venni az eltérő arányokat a kvantitatív meghatározásoknál.

A pH-tól és az ion miliótól erősen függ és változik magának a rézfoszfát szuszpenzióknak a réz vakértéke. Az erre vonatkozó viszonyokat a *Pope* és *Stevens* alapú puffer és a réz aminosav komplexek meghatározására szintén használt *Atkins—Pantin* puffer ($\text{Bórsav—KCl—Na}_2\text{CO}_3$) esetében a 4. ábra mutatja.

Míg a borát-foszfát pufferben a pH emelkedésével a réz vakérték csaknem szabályosan csökken, addig az *Atkins—Pantin* puffer esetében 7,4-től 10,0 pH-ig növekszik, majd ismét kissé csökken. Megemlítendő, hogy az *Atkins—Pantin* puffer egyébként nem alkalmas a réz polarográfiás meghatározására, mert a klorid ionok jelenléte miatt a réz két egymást követő lépcsőben válik le.

A pufferezott szűrőpapíron végzett vizsgálataim még arra is fényt derítettek, pl. a 12,0 pH-jú fenolos kromatográfiánál, ahol aszparaginsav, glutaminsav, szerin, glikokoll, treonin, alanin az aminosavak sorrendje a start vonaltól számítva, hogy a kromatografálás után az alanin magasságában a papíros mintegy kétszer akkora puffer mennyiséget tartalmaz, mint az aszparaginsavnál. Ebből következik, hogy előre elkészített standard görbe nem elégíthet ki, mert a kromatográfia körülményeitől bizonytalan, esetenként változó, de a papíros egyazon magassági vonalára nézve homogénnek vehető puffersó tartalom befolyásolni képes a diffúziós áram lépcsőmagasságát.

Végül lehetőség van arra is, hogy a lúgos tulajdonságú puffer sók és az oldószer hatására a celluloze rostokon levő szénhidrátszerű felületaktív anyagok is tovasodródjanak, ill. részben újak is keletkezzenek, melyek azután a lépcsőmagasság kialakulására szintén befolyással vannak.

Összefoglalva tehát a pufferezett szűrőpapírosokon végzett modell vizsgálatok eredményét, a következő hibaforrásokat tártam fel:

1. a pH-tól és ionmiliótól erősen változó amino-N:Cu arányt csak a kromatográfiás technikából eredő adott körülményekre (a puffer azonos kémiai összetétele és azonos mennyisége) szabad definiálni venni;

2. a puffer hatás változása a „vakréz” értéket is jelentősen befolyásolja ;

3. a pufferezett papíroskromatogrammnál az oldószerfronttal bizonyos puffer mennyiségek vándorolnak el, tehát csak a startvonaltól azonos távolságban lehet mennyiségüket azonosnak venni ;

4. a szűrőpapíros minőségének gyártási ingadozásától, a kromatográfia körülményeitől (időtartam, hőfok, pufferozás) a polarográfiás lépcsőnagyságot befolyásoló felületi aktív anyagok mennyisége megváltozhat és a különböző papíroson végzett vizsgálatok összehasonlítását lehetetlenné teszi.

A kromatográfiai körülmények pontos reprodukálása szinte lehetetlen, de polarográfiai körülmények állandósítása is nehézségeket okoz, tehát Jones (14)-től eltérőleg meg kell állapítani, hogy papíroskromatogrammok aminosavainak kvantitatív meghatározása elméleti μA értékek alapján gyakorlatban nem lehetséges. Ugyanis a felsorolt különböző okok által módosult lépcsőmagasságot átszámítani az összes fennálló hiba korrekciójával lehetetlenség.

Valamennyi hibafaktor kiküszöbölhető azonban azzal a fogással, hogy nem abszolút áramintenzitást állapítunk meg, hanem az adott körülmények között ismert mennyiségű standard aminosavakat is mérünk. Tehát gyakorlatban úgy járunk el, hogy a standard aminosavakat (növekvő mennyiségű sorozat) ugyanazon a szűrőpapíroson kromatografáljuk az ismeretlennel és a foltokat azonos nagyságúra kivágva, végig azonosan kezeljük, majd azonos módon polrografáljuk.

IRODALOM

- (1) Levy D. L., Chung D : Anal. Chem. 25. 396. 1953.
- (2) Bentley H. R., Whitehead J. K : Biochem. J. 46. 341. 1950.
- (3) Mc Farren E. F : Anal. Chem. 23. 168. 1951.
- (4) id. Jaschnik S : Papíroskromatográfia. Mérnöki Továbbképző Intézet kiadása. 3128. sz. 1955.
- (5) Pope C. G., Stevens M. F : Biochem. J. 33. 1070. 1939.
- (6) Woiod A. J : Biochem. J. 42. XVII. 1948.
- (7) Spier H. W., Pascher G : Hoppe Seiler's Zeitschr. phys. Chem. 296. 147. 1954.
- (8) Lindner K : Élelmiszervizsgálati Közlemények. III. 145. 1957.
- (9) Lindner K : Élelmiszervizsgálati Közlemények. III. 154. 1957.
- (10) Martin A. J. P., Mittelman R : Biochem. J., 43. 353. 1948.
- (11) Borsok H., Thiemann K. V : J. biol. Chem. 98. 671. 1932.
- (12) Lin. C., Doody E : J. Amer. Chem. Soc. 74. 4184. 1952.
- (13) Miura K. et al : J. agr. chem. Soc. Japan 27. 721. 1953.
- (14) Jones T. S. G : Biochem. J. 42. LIX. 1948.

III. TRENUNG VON BILKOWYX HYDROLYSATUMOX NA FILTYROWALNOY BUMAHE, NAPITYWANNOY BUFRNYYMY RASTWORAMY

K. Lindner

Prj issledowanij primeneniya filtyrowalnoy bumagi napitywannoy bufrnnyy rastworamy, awtor ustanowil, chto optimalnoy yavlyetsya elektroliticheskaya suspenziya pri pH 9,5. Sostaw bufera izmenyayet otnosheniye amino-azot/međdy kompleksow.

Soderzhaniye bufera w filtyrowalnoy bumage naibolee izmenyayet id pri kromatogramme s fenolom pri pH 12.

Wo wremya kromatografirovaniya s dwizheniye fronta rastworitelya dwizhutsya ne tolyko bufrnye soli, a takzhe powerxnost'-aktivnye weshchestwa bumagi, chto ne daet vozmozhnost' primenit' postoyannye stendertry.

Naiprostym metodom yavlyetsya dlya korektsij vozmozhnyx oshibok, chto stendertnyy diagramm prigotowlyetsya iz aminokislota izwestnogo kolichestwa, kromatografirowannyx na tozhestwennoy bumage, pyatna wyrezayutsya s tozhestwennoy ploshchady i posle prigotowleniya polyografiruyetsya.

III. UNTERSUCHUNGEN DURCH TRENNUNG VON EIWESSHYDROLYSATEN AUF GEPUFFERTEM FILTERPAPIER

K. Lindner

Verfasser stellt auf Grund seiner weiteren, hinsichtlich der Verwendung von gepufferten Filtrierpapieren durchgeföhrten Versuche fest, dass das für die Bestimmung optimale pH der Trägerelektrolyt-suspension bei 9,5 liegt. Die Zusammensetzung des Puffers beeinflusst auch das Verhältnis N/Cu der Komplexe.

Der Puffergehalt des Filterpapiers ändert das i_d am stärksten bei Phenolchromatogrammen mit pH 12.

Im Laufe der Chromatographie werden mit der Lösungsmittelfront auch die in das Papier aufgesaugten Puffersalze, ja sogar die oberflächenaktiven Substanzen des Papiers fortbewegt und angereichert, wodurch die Anwendung eines ein für allemal gültigen Standards unmöglich gemacht wird.

Das einfachste Verfahren zur Korrektur der Fehlermöglichkeiten besteht darin, dass man die Standardkurve mit bekannten Mengen der auf demselben Papier chromatographierten Aminosäuren so verfertigt, dass man die Flecke mit derselben Papierfläche ausschneidet und vollkommen identisch vorbereitet auf gleiche Weise polarographiert.

III. RESEARCHES INTO THE SEPARATION OF PROTEIN HYDROLYSATES IN BUFFERED FILTER PAPERS

K. Lindner

As a result of further investigations in connection with the use of buffered filter papers, the author found that an optimum determina-

tion may be carried out in a supporting electrolyte suspension of pH 9,5. The composition of buffer affects the ratio amino-N/Cu of the complexes as well.

The value of i_d was mostly influenced by the buffer content of filter paper when the phenolic chromatogram had a pH of 12,0

During chromatography, buffer salts absorbed by the filter paper, further the surface active substances of the paper are moving with the solvent front and become enriched. This excludes the application of a constant standard.

In order to correct eventual errors, a simple method is recommended. A standard curve is prepared by establishing chromatograms of known amounts of aminoacids, on the same strip of paper, cutting out identical surfaces of spots, processing the cuts in a completely identical manner and examining them by polarography, in an identical way.

III^e — ANALYSES EXÉCUTÉES PAR LA SÉPARATION D'UN HYDROLYSAT ALBUMINEUX À L'AIDE DU PAPIER FILTRE TAMPONNÉ

K. Lindner

L'auteur, comme résultat de ses recherches concernant l'emploi des papiers filtres tamponnés, a vérifié que l'optimum de la suspension de l'électrolyte, du point de vue de la détermination, est situé vers 9,5 pH, la proportion de N/Cu se laissant influencer par la composition du tampon des complexes.

C'est pour le chromatogramme phénolique de 12 pH que la teneur en tampon du papier filtre effectue le changement le plus évident de l' i_d

Durant l'exécution de la chromatographie, les sels tamponnants dans le papier filtre, même les agents actifs de la surface du papier, se déplacent et s'enrichissent aussi, conjointement avec le front de l'agent solvant, à la façon de rendre l'emploi d'un standard de validité permanente tout à fait impossible.

Pour la correction des chances d'erreur, le procédé le plus simple est celui de préparer la courbe standard chromatographiée sur le même papier avec de certaines quantités de l'aminoacide, puis on découpera les tâches de surface identique, et ceux-ci, préparés tout identiquement, seront polarographiés à la même manière.

Aminosav papiroskromatogrammok mennyiségi értékelése polográffal

LINDNER KÁROLY

IV. Természetes standard aminosav keverék alkalmazása fehérjék aminosav összetételének rendszeres meghatározásánál

A papiroskromatogrammok kiértékelését egyes szerzők külön standard görbék elkészítével, továbbá a vizsgálatok standard körülményeinek segítségével (1) végzik. Mások a

standard anyagok, egyes aminosavak vagy mesterségesen készített aminosav keverékek, együtt kromatografálást (2) és minden egyes alkalommal külön-külön standard meghatározását vezetik be.

A papíroskromatográfiából eredő hibáknak, melyekről *Fischer* és *Dörfel* (2) tanulmányt készített, egyszerű kiküszöbölését jelenti a standard anyag együtt kromatografálása. Ez utóbbit tartottam alkalmasnak már az elővizsgálatok (3, 4, 5) alapján is. Azonban a standard aminosav keverék céljaira megfelelőbbnek látszott egy állandó aminosav összetételű fehérje hidrolizátum bevezetése, mint alkalmanként a csak többékevésbé reális összetételi arányú, drága és a bemérési hibáktól nem mentes mesterséges aminosav keveréket elkészíteni. *Jaschik Sándor* (6) mind a két dimenziós, mind pedig az egy dimenziós kromatografiák becsléses megítéléséhez kazein hidrolizátumot javasol.

Tiszta kazein, alfa kazein és béta kazein hidrolizátumának kvantitatív célokra való bevezetésére az az elgondolás vezetett, hogy igen sok élelmiszer fehérje aminosav összetétele közel áll hozzá és ha ezek hidrolízisét az ismeretlen fehérjével egyidőben és azonos módon végezzük a humin képződést gátló sokszoros mennyiségű sósavval, akkor az esetleges csekély mértékű aminosav veszteségek közel azonosak, de legalább is arányosak lesznek.

Felmerülhet az a kérdés, hogy mennyire megbízható az aminosav összetétel állandósága. Bár a *Hammersten* (7) féle kazeint *Tiselius* vizsgálatáig az egyik legjobb tiszta homogén fehérjének tartották, mégis ma már *Mellander* (8) részletes elektroforézis kísérletei után ismerjük, hogy alfa, béta és gamma frakciókból áll. Sőt *Cherbuliez* és *Baudet* (9) újabb vizsgálatai után ezenkívül megismertük, hogy az említetteken kívül még delta, továbbá alfa 1 és alfa 2 elnevezésű frakciókat is tartalmaz.

Ilyen több frakcióból felépített volta ellenére a különböző szerzőknek különböző módszerekkel kazeinen végzett aminosav összetételi vizsgálatainak eredményei között nagy az egyezés. Érdekes megemlíteni, hogy mennyire lehet számítani az aminosav összetétel állandóságára azt, hogy *Sarkar* és munkatársai (10) egyes állatfajok (szarvasmarha, juh, sertés és ló) tejfehérje aminosav összetételének vizsgálatakor az egyedi tejek között csak a mikrobiológiai módszer hibáján belüli eltéréseket észleltek.

Müting és *Wortmann* (11) különböző szerveket vizsgálva az azonos feladatú szervek fehérjéit közel azonos aminosav össze-

tételűeknek találta. Viszont figyelemre méltó, hogy *Kanngieser* (12) úgy tapasztalta, hogy míg az egészséges burgonyagumók préselvei azonos fehérje frakciókat tartalmaznak, addig a vírus betegségben szenvedők fehérje frakciói eltérnek ezektől. Még számos példát lehetne az állat és növény biológiai ismeretkörből felsorolni, arra hogy a funkcionális feladatú fehérjék, — és ilyen a tejfehérje a kazeinnal együtt, — aminosav összetétele állandó.

A teljes-, az alfa- és a béta kazeint legcélszerűbb *Warnernak* (13), *Cherbuliez* és *Baudet* által (9) módosított eljárással előállítani. Az így elkészített kazein, illetve frakciói elporítva, légszáraz állapotban szinte korlátlanul eltarthatók és a hamu, valamint a nedvességtartalom figyelembevételével, mindig azonos aminosav összetételű modell fehérje áll a hidrolízis céljára rendelkezésre. A kazein, illetve frakcióinak aminosav összetételét az I. táblázat tünteti fel.

I. táblázat

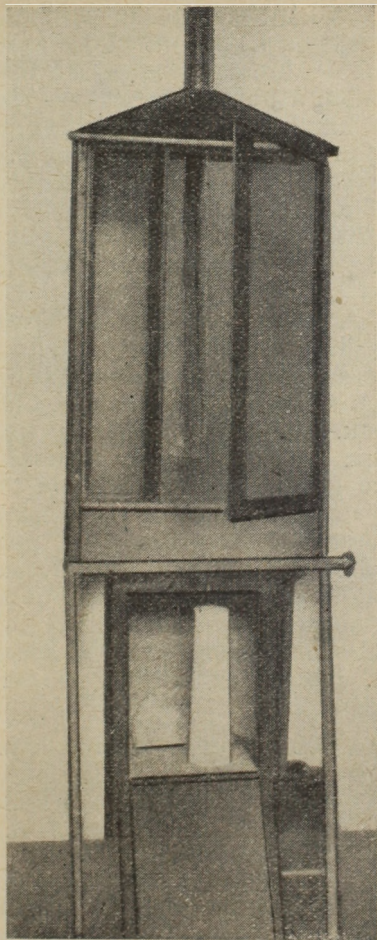
Aminosav	Kazein (14)	alfa kazein (15)	béta kazein (15)
Arginin	4,1	4,4	3,5
Hisztidin	3,0	2,9	3,1
Lizin	8,2	8,9	6,4
Glutaminsav	22,4	22,2	23,2
Aszparaginsav	7,2	8,5	4,9
Glikokoll	2,7	2,9	2,4
Alanin	3,0	3,7	1,7
Valin	7,1	6,3	10,2
Leucin	9,2	7,8	11,7
Izoleucin	6,1	6,4	5,5
Prolin	11,6	8,2	16,0
Fenilalanin	5,5	4,6	5,8
Szerin	5,9	6,3	6,8
Treonin	4,5	4,9	5,1
Tirozin	6,1	8,1	3,3
Metionin	3,0	2,5	3,4

A rendszeres aminosav vizsgálatok menetének leírása

A megfelelő módon, például *Ivanov* és *Dodonov* (16) eljárásával kivont fehérjét, ha szükséges a nagymennyiségű szénhidrát miatt híg 0,01*n* lúgban való többszöri feloldással és 5%-os triklórecetsavval lecsapva tisztítjuk.

A triklórecetsavas csapadékot (kb. 50—100 mg fehérje), továbbá a víz és hamumentesen számított pontosan 50 mg tisztított kazeint, illetve alfa-, vagy béta kazeint, mintegy

150—200-szoros mennyiségű 20%-os sósavval leforrasztott vastagfalú ampullában 100–105 C°-on 24 óra alatt elhidrolizáljuk. A sósavat vákuumban történő bepárlással, illetve szükség esetén egyszerű vízfürdön 2—3 ízbeni desztilláltvízes megnedvesítéssel eltávolítjuk. A kazeint ezután fehérjére nézve pontosan 1%-osra oldjuk fel. Az ismeretlen fehérjéket pedig szintén megközelítőleg 1%-osra hígítjuk. Ezután 50—100—150 μg -nyi kazein standardet, ami megfelel 5,83, 11,66 és 17,49 μg alfa aminó N-nek és az ismeretlenből a 100 μg kazein térfogatának megfelelő mennyiséget 2 — 2 ml 9,5 pH-jú ismertetett összetételű (5) rézfoszfát-pufferkeverékkel reagáltatunk többszöri felkeverés mellett, legalább fél órán át. Centrifugálás után az oldat tisztáját Novák edénybe, vagy az általam bevezetett összeállítású (4) mikropolarografáló edénybe öntjük át és a megfelelő érzékenységet beállítva, oxigénmentesítés után felveszszük a komplexbe vitt réz polarogramját. A kazein standardek segítségével, vagy a szükséges hígítás mértékét, vagy az azonos aminónitrogént jelentő térfogatokat állapítjuk meg az egyes ismeretlen fehérjéknél.



1. ábra.

A természetes fehérjék (élelmiszerfehérjék) felépítésében általában szereplő 18 aminósav közül tizenhatot a savas hidrolizátum papíroskromatografiás szétválasztás után, kettőt a triptofánt és a cisztint pedig közvetlen eljárásokkal határozzuk

meg. A kérdéses tizenhat aminosavat a két *McFarren* (17) rendszerű, — a 12 pH-jú fenolos és a 8,4 pH-jú benzilalkohol-butánolos, — kromatografálással, továbbá a ma már klasszikusnak mondható butanol-ecetsav — víz oldószerrel való kromatografiás kifejlesztésével, mennyiségi meghatározásra is alkalmas módon tudjuk elválasztani. Ezért az egyes kromatografiás papírosokra, melyeket lefelé futóknak készítünk elő (6), standardként 3 cm-es vonalban felviszünk az aminónitrogén alapján 200—300—400 μg hidrolizált kazeint és közbül az ismeretlen fehérjék hidrolizátumból 300 μg kazein alfa aminónitrogénjének megfelelő mennyiségeket.

A kromatografálás befejezése után az 1. ábrán látható ventilációs szárítószekrény felső részében a kromatogramokat megszáritjuk és a szekrény alsó részében magasabb, 100—103 C°-on szintén légáramban az oldószer nyomoktól is megszabadítjuk. 10—15 perces ilyen hőkezelés után analitikai kvarclámpa U. V. fényében a kékesen lumineszkáló aminosav foltok puha grafit ceruzával kijelölhetők.

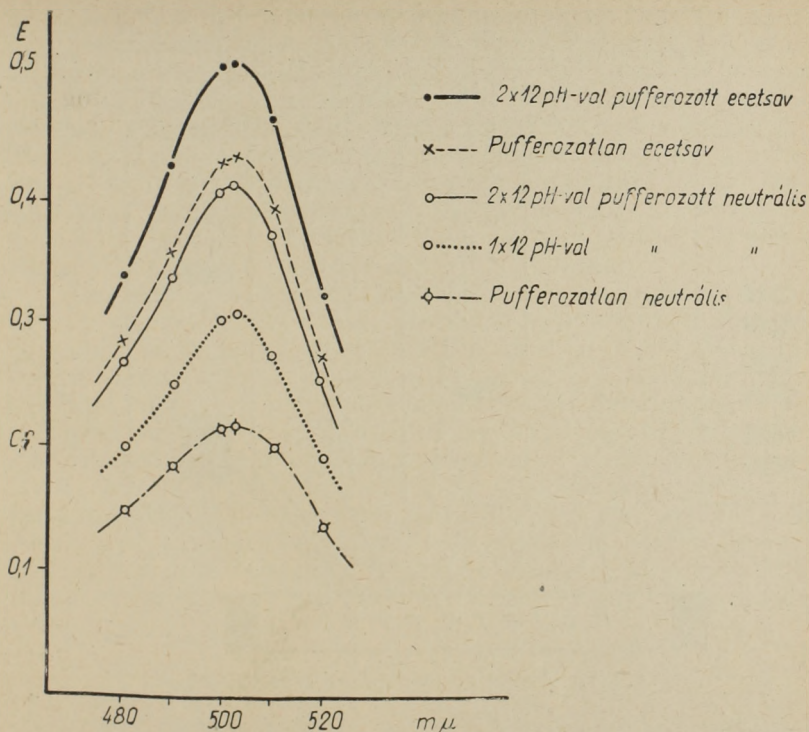
Ezután a foltokat a diffúzió miatt 2—3 mm-rel nagyobbra kivágjuk és felaprítva 2—2 ml rézfoszfát szuszpenzióval legalább fél órán át reagáltatjuk, majd a lecentrifugált oldat tisztájának rézlépcsőjét polarografiásan felvesszük. Kiertékelésre a különböző kazein mennyiségekből származó kromatografiásan elválasztott aminosavakkal készített standard görbék szolgálnak. Így pl. az említett kazein mennyiségek felvitele esetén aszparaginsavnál

- a 200 μg -nyi kazeinnal kapott rézlépcsőt 14,4 μg -nál,
- a 300 μg -nyi kazeinnal kapott rézlépcsőt 21,6 μg -nál,
- a 400 μg -nyi kazeinnal kapott rézlépcsőt 28,8 μg -nál,

illetve, ha alfa kazeint használtunk

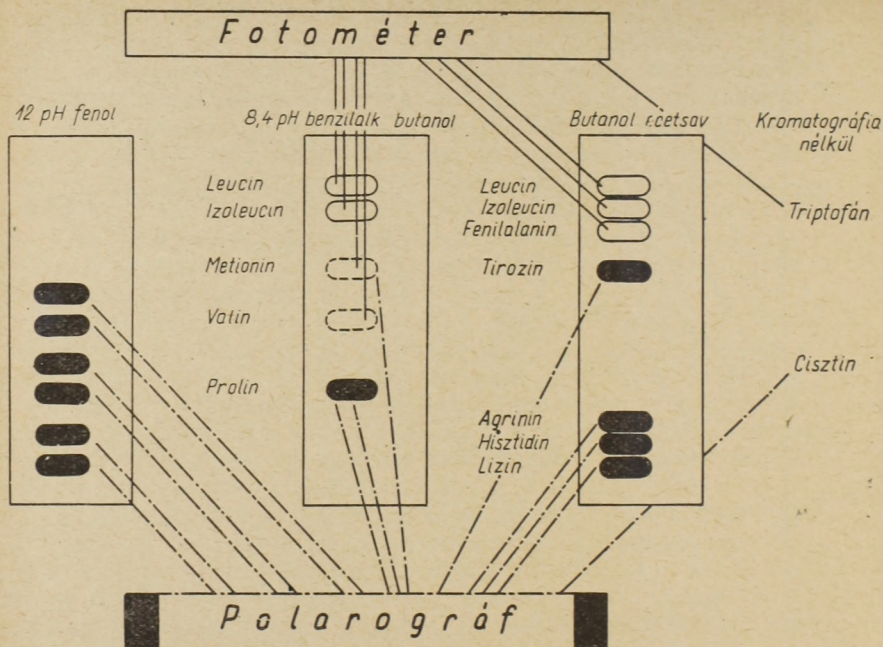
- a 200 μg -nyi alfa kazeinnal kapott rézlépcsőt 17,0 μg -nál,
 - a 300 μg -nyi alfa kazeinnal kapott rézlépcsőt 25,5 μg -nál,
 - a 400 μg -nyi alfa kazeinnal kapott rézlépcsőt 34,0 μg -nál
- visszük fel a lépcső magasságot a diagrammra. Ennek segítségével azután könnyen megállapítható az ismeretlen fehérjék aminosav tartalma.

A kromatogramokon — bár ideálisan nem terjednek szét a foltok — a legtávolabb futó aminosavak a gyakorlatban már olyan diffúziót szenvednek, hogy U. V. fényben kijelölésük bizonytalanvá válik. Szükséges volt tehát ezekre, — nevezetesen a leucinra, izoleucinra, fenilalaninra és a valinra — kiegészítésül egy olyan módszert alkalmazni, amely egyben kijelölésület



2. ábra. 10 μg Leucin extinkciós görbéje különböző módon kifejlesztelt Wieland fes'ékkomplex esetében.

és meghatározásukat is lehetővé teszi. A Wieland és Kawerau által bevezetett ninhidrinaminósav-rézkomplex, amelyet Bode és munkatársai metilalkoholos közegben fotometráltak, alkalmasnak látszott erre. Bár Fischer és Dörffel (2) sokat foglalkoztak e módszer alkalmazásának hibaforrásaival, elméleti kérdéseivel, mégis a maximális színekifejlesztésre, — tekintettel arra, hogy a különböző módon pufferezott és pufferezatlan szűrőpapíron a szintézis tekintetében eltérő eredményeket kaptam, — vizsgálat sorozatot végeztem. A különböző mértékű pufferezás és különböző összeállítású ninhidrin előhívószerral végzett vizsgálat sorozat Beckmann D. U. spektrofotometerrel kapott eredményét a 2. ábra mutatja. Ebből látható, hogy az általában lúgosra pufferezott papíron 5% ecetsavat is tartal-



3. ábra. Az aminosav meghatározás skémája

mazó ninhidrin reagenssel lehet a legerősebb színintenzitást kapni, amely a neutrális előhívásnak mintegy két és félszerese. A görbék lefutásából azt is láthatjuk, hogy minden esetben ugyanarról a vegyületről van szó, csak a papiroson végbement reakció többé, vagy kevésbé teljesebb. Gyakorlatban tehát úgy járunk el, hogy polarográfiás meghatározásra kivágjuk a foltokat, majd a kérdéses részeken a kromatografiás célokra amúgy is használatos 12 pH-ju pufferrel (5) két ízben nyirkosra permezzük be a papirost közben természetesen kiszárítjuk és a végső kiszáritás után hívjuk elő a színt ecetsavas ninhidrin reagenssel. A réznitrátos bepermetezés és kiszáritás után a foltokat 3—3 ml metanolban oldva fotometráljuk. A kazein standardokkal a polarografiás meghatározáshoz hasonlóan végezzük az ismeretlen fehérjék aminosav tartalmának megállapítását.

A 3. ábra a kidolgozott rendszeres, gyakorlatilag keresztülvihető aminosav meghatározási módszer skémáját adja meg. Ebből kitűnik, hogy a 12 pH-ju papiroson elválasztott hat

aminosavat, a 8,4 pH-ju kromatogrammon elválasztott négy és a butanol-ecetsav vízzel elválasztott kromatogrammon négy aminosavat határozunk meg polarográf segítségével, míg a többiekét fotometriásan mérjük meg. Megjegyzendő, hogy a szagotott vonallal bejelölt valinra és metioninra a diffúziótól függően egyik, vagy másik módszert alkalmaztuk. Míg a triptofán és a cisztin megállapítására a hidrolizisre való érzékenységük miatt közvetlenül a fehérjéből vagy az anyagból a *Spies* és *Chambers* (18) fotometriás, illetve *Brdicka* (19) polarografiás módszerét vezettük be.

Az eljárás kidolgozásával igyekeztem olyan módszert nyújtani a fehérje analitikusok számára, amely nem túlzottan bonyolult és mégis kielégítő eredményeket ad. Erre példaként megemlíthető, hogy az irodalmiakkal jól egyező aminosav értékeket ad meg egyes, már külföldön is vizsgált élelmiszerfehérjék esetében, egy másik szakfolyóiratban megjelent cikkünk (20). Az élelmiszerfehérjék analíziséen kívül, más területeken, így az állati takarmányok értékelésében, a növény-nemesítésnél a keresztezések hatáosságának megállapításában, táplálkozás-élettanban a fehérjeanyagcsere vizsgálatoknál, sőt a gyógyszeriparban a különböző fehérjehidrolizátumok standardizálásában is lehetőség nyílik az ismertetett módszer alkalmazására.

IRODALOM

- (1) *Naftaline L.*: Nature. 161. 763. 1948.
- (2) *Fischer F. G., Dörfel H.*: Biochem. Zeitschr. 324. 544. 1952.
- (3) (4), (5) *Lindner K.*: Élelmiszervizsgálati Közlemények. III. 145, 154 és 164, 1957.
- (6) *Jaschik S.*: Papiroskromatográfia. Mérnöki Továbbképző Intézet kiadása. 3128. sz. 1955.
- (7) *Hammarsten*: Z. physiol. Chem. 7. 227. 1883.
- (8) *Mellander*: Biochem. Z. 300. 240. 1939.
- (9) *Cherbuliez E., Baudet P.*: Helv. Chim. Acta. 33. 398. 1950.
- (10) *Sarkar B. C. R. et al.*: Journ. of Dairy Sci.: 36. 859. 1953.
- (11) *Müting D., Wortmann V.*: Biochem. Zeitschr. 325. 448. 1945.
- (12) *Kannqieser W.*: Phytopathol. Z. 18. 447. 1952.
- (13) *Warner R. C.*: J. Amer. Chem. Soc. 66. 1725. 1944.
- (14) *Greenberg D. M.*: Amino Acids and Proteins. 105. 1951. Springfield.
- (15) *Gordon W. G. et al.*: Fed. Proc. 8. 202. 1949.
- (16) *Ermakov A. I. et al.*: Metodi biochimiceszkovo iszledovanija rasztenii. 1952. Moszkva—Leningrád. 320. o.
- (17) *Mc Farren E. F.*: Anal Chem. 23. 168. 1951.
- (18) *Spies J., Chambers D.*: Anal Chem. 20. 30. 1948.
- (19) *Brdicka R.*: Mikrochemie. 15. 167. 1934.
- (20) *Lindner K., Jaschik S., Korpáczy I.*: Kísérletes Orvostudomány 1956.

IV. ПРИМЕНЕНИЕ СМЕСИ ЕСТЕСТВЕННЫХ СТЕНДЕРТНЫХ АМИНОКИСЛОТ ДЛЯ СИСТЕМАТИЧЕСКОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ СОСТАВА АМИНОКИСЛОТ В БЕЛКАХ

К. Пинднер

Для количественной оценки бумажных хроматограммов белковых гидролизатов, автор применил белки стандартного состава, казеина, точнее альфа казеина, что гидролизуется точно так, как неизвестные белки.

Установил оптимальные условия развивания окраски соединения нингидрин-аминокислота-медь, полученного при определении диффузных аминокислотных пятен фотометрическим методом.

Выработал схему систематического определения 18 аминокислот пищевых белков.

IV. VERWENDUNG EINES NATÜRLICHEN STANDARDGEMISCHES VON AMINOSÄUREN BEI SYSTEMATISCHER BESTIMMUNG DER AMINOSÄUREN-ZUSAMMENSETZUNG VON EIWEISS

К. Lindner

Verfasser führte zur quantitativen Auswertung der Papierchromatogramme von Eiweißhydrolysaten ein standard gebautes Vergleichseiweiß, das Casein, bzw. Alpha-Casein ein, welches genau so hydrolysiert wird, wie das unbekannte Eiweiß.

Auch stellte er diejenigen Bedingungen fest, welche die als photometrische komplettierende Methode zur Bestimmung der diffusen Aminosäuren gebräuchliche optimale Farbentwicklung der Ninhydrin-Aminosäure-Kupferverbindung begünstigen.

Er arbeitete ein Schema für die systematische Bestimmung der 18 Aminosäuren aus, die gewöhnlich die in Lebensmitteln vorkommenden Eiweisse aufbauen.

IV. USE OF A STANDARD MIXTURE OF NATURAL AMINOACIDS AT THE ROUTINE DETERMINATION OF AMINOACIDS IN PROTEINS

К. Lindner

In order to carry out a quantitative evaluation of the paper chromatograms of protein hydrolysates, the author proposes the use of a protein of standard composition (as casein or alpha-casein) hydrolysed just in the same manner as the unknown protein samples.

The conditions of developing the optimum colour intensities of the ninhydrin-aminoacid-copper compound were established by the author. This photometric method is applied as a complementing procedure, to determine the diffuse spots of aminoacids.

A scheme was evolved for the routine determination of the 18 different aminoacids occurring in food proteins.

IV^e – L'EMPLOI DES SOLUTIONS COMPOSÉES DE MÉLANGES
D'AMINOACIDE STANDARD NATUREL, POUR L'ÉTABLISSE-
MENT DE LA COMPOSITION DES ALBUMINES SYSTHÉMA-
TIQUE

K. Lindner

Pour l'évaluation quantitative des papiers chromatographiques des hydrolysats albumineux, introduisant, en vue de comparaison, l'albumine d'une composition standard, disons le caseine, savoir spécialement le caseine alpha l'auteur fait hydrolyser ces derniers, à une façon identique aux albumines inconnues.

En déterminant les tâches d'acido-amino diffusés, l'auteur a établi les conditions les mieux possibles pour le développement des couleurs des combinaisons de ninhydrine-aminoacide-cuivre, utilisant ce procédé comme une méthode supplémentaire photogrammétrique.

De plus, pour l'établissement systématique des dix-huit types de l'acido-amino, composants généralement des albumines, un schéma est développé par l'auteur.

Új koloriméteres módszer a szerves nitrogéntartalom mennyiségi meghatározására

KORPÁCZY ISTVÁN

Országos Élelmezés és Táplálkozástudományi Intézet, Budapest

Érkezett: 1957. január 4.

A szerves anyagok molekuláinak felépítésében részt vevő nitrogén mennyiségi meghatározásának klasszikus módszere *DUMAS*-tól származik. *DUMAS* módszerével minden szerves anyag nitrogén tartalma meghatározható, a meghatározások eredménye pedig annyira pontos, hogy a szerves anyagok molekuláris összetételének megállapításánál manapság is az egyetlen megbízhatónak, nélkülözhetetlennek, döntőnek tartott és elismert módszer. Dumas módszere klasszikus módszer. Lényege abban áll, hogy a vizsgálati anyagot rézoxiddal keverjük, égető csőben hevítéssel a hidrogént vízzé, a szénét széndioxiddá elégetjük és elnyeletjük, az esetleges klórt, ként, foszfort alkalmas vegyszerekkel megkötjük, az oxigént elnyeletjük és végül a nitrogént gazométeresen mérjük. Az eredeti módszer természetesen sok korszerűsítésen ment keresztül, de lényege változatlanul megmaradt. A meghatározások bonyolultsága és kényessége, a berendezés költséges volta miatt gyakorlati célokra és tömegvizsgálatok végzésére nem alkalmas.

A másik klasszikus módszer *WILL* és *WARRENTAPP* nevéhez fűződik. Lényege abban áll, hogy a szerves anyagot nátronmésszel keverjük, vörös izzáson elroncsoljuk és a keletkezett ammoniát meghatározzuk. Érdekes korszerű kiviteli módját *RÉMY* és *PITTIOT* közölte (1), de még ez is túlságosan bonyolult és költséges sorozatvizsgálatok céljaira.

Érdekes megoldást közölt legújabban *SCHÖNIGER* (2), aki magnéziumporral tárja fel a szerves anyag nitrogénjét és alakítja át ammoniává. Megfelelő berendezés birtokában eljárása igen tetszetősnek látszik.

A felsorolt eljárások a gyakorlati élet számára túlságosan bonyolultak, kényelmetlenek, időt rablók és költségesek voltak, ezért nagy előrehaladást jelentett a szerves anyagok nitrogén tartalmának, így az élelmiszerek nyersfehérje tartalmának meghatározásában, amikor a 90-es években Kjeldahl kénsavas nedves roncsolási eljárását megismertette. Az azóta eltelt több mint 60 év alatt eljárásának óriási irodalma támadt, nagyszámú szerző törekedett az eljárást gyorsabbá, pontosabbá, a szerves anyagok nagyobb számú csoportjára alkalmassá tenni. *BRADSTREET* (3) csak 1939-től kezdődően 73 irodalmi hivatkozást ad meg.

E törekvések egy része arra irányult, hogy a kénsav forrás-pontjának emelésével a roncsolást gyorsabbá és teljesebbé tegyék, amit káliumszulfát, nátriumszulfát, foszforsav hozzáadásával értek el. Így KEYS (4) ajánlja 3 rész tömény kénsavhoz 1 rész 85 százalékos foszforsav adását, ez által 20 perc alatt teljes roncsolást lehet elérni, de a roncsoló keverék erősen megtámadja az üveget.

Más törekvések katalizátorok hozzáadásával gyorsítják meg a roncsolás folyamatát. A rézszulfát használatát már maga *KJELDAHL* is ajánlotta, újabban *THOMPSON* és *MORRISON* (5). Igen jó a fémhigany, vagy a merkurioxid, merkuriklorid, vagy merkuriszulfát katalizátor (végeredményben mindegyik merkuriszulfáttá alakulva vesz részt a reakció katalizálásában), azonban a keletkezett ammoniával merkuriamin komplexvegyületet képez, amit a lúg nem bont meg, ezért a komplexből a higanyt káliumszulfiddal vagy nátriumtioszulfáttal szulfid alakban le kell csapni, vagy cinkporral amalgámmá redukálni, hogy az ammonia ledesztillálható legyen. Higanyvegyületek használatát katalizátorként ajánlják többek között *HILLER*, *PLAZIN* és *VAN SLYKE* (6), *KÖRPÁCZY* (7), *MIDDLETON* és *STUCKEY* (8), *McCUTCHAN* és *RÖTH* (9), *POLLEY* (10).

Nagyon sok szerző ajánlja a szelén illetve szelénessav használatát, viszont sok szerző ellenzi, amennyiben huzamosabb hevítésnél nitrogénveszteséget okoz. Sokan ajánlják azonban keverékkatalizátorként való felhasználását. Így rézszulfáttal *BORSOOK* és *DUBNOFF* (11), *TOMPKINS* és *KIRK* (12), *SOBEL*, *MAYER* és *GOTTFRIED* (13), merkuriszulfáttal együtt *KULEN* (14), *HADORN*, *JUNGKUNZ* és *BIEFER* (15).

RAPPAPORT (16) titánhidroxidot ajánl katalizátorként, *BENCZE* (17), pedig rézszulfát és higanyzulfát keverékét, azonkívül nagyon ügyes kis készüléket is ismertet.

Nagyon sok szerző oxidáló szereket használ a roncsolás meggyorsítására, míg sok szerző tiltja használatukat nitrogénveszteség bekövetkezése miatt. Leggyakrabban a hidrogénperoxidot vagy káliumperszulfátot ajánlják akár egyedül, akár katalizátorokkal (rézszulfát, merkuriszulfát) együtt, így *BORSOOK* és *DUBNOFF* (11), *LEVY* és *PALMER* (18), *THOMPSON* és *MORRISON* (5), *HADORN*, *JUNGKUNZ* és *BIEFER* (15), *ROBINSON* és *SHELLENBERGER* (19), *KEYS* (3), *HARVEY* (20). *BEET* (21) a káliumpermanganát használatát tartja legjobbnak. Nitrátokat, nitriteket tartalmazó anyagok-

nál ferrokloriddal bontjuk el e vegyületeket a roncsolás előtt. Szerves nitro és nitrózóvegyületek roncsolására szalicilsav és nátriumtioszulfát, ill. tioszalicilsav vagy alfa-naftol és pirogallol keverékét ajánlja *McCUTCHAN* és *ROTH* (9), illetőleg *BRADSTREET* (4).

Ez a hiányos felsorolás is mutatja, hogy még mindig a legellentmondóbb nézetek uralkodnak a Kje dahl szerinti roncsolás leghelyesebb és legpontosabb eredményeket adó kivitelési módját illetően. Ezért elhatároztam, hogy összehasonlító kísérletekkel döntöm el, melyik bizonyul használhatónak új koloriméteres nitrogén meghatározási módszeremmel kapcsolatban. Már előzetes számítások is azt mutatták, hogy a kénsav forráspontjának emelésére csakis nátriumszulfát alkalmazása jöhet tekintetbe, az is csak korlátozott mennyiségben, hogy a 40—50 térfogat százalék alkoholt tartalmazó reakcióelegyben oldható maradjon. Foszforsav nem használható, mert nagy mértékben emelné a semlegesítésre szükséges nátronlúg mennyiségét és a Kjeldahl-lombikokat is nagyon erősen megmarja. A szelénnel való kísérletezéstől a sok ellentmondó irodalmi adat hatására lemondtam és így csak rézszulfáttal, merkuriszulfáttal, hidrogénperoxiddal és káliumpermanganáttal végeztem összehasonlító kísérleteket. A roncsolmányokból az ammoniát *WAGNER—PARNAS* készülékből 0,01 n kénsavba desztillálták át. Nem szándékozem e kísérleteket részletesen tárgyalni, csak az eredményeket közlöm. Ezek szerint a rézszulfátos és a merkuriszulfátos roncsolás egymással nagyon jól megegyező eredményeket adott, az eltérés köztük abban állt, hogy a merkuriszulfátos roncsolás fele annyi idő alatt fejeződött be, mint a rézszulfátos. Nagyon gyorsan elroncsolta a szerves anyagot a hidrogénperoxid hozzáadásával végzett roncsolás, de nagyon jelentős (15—20 százalékos) nitrogén veszteséget okozott. Teljesen alkalmatlannak bizonyult a káliumpermanganát használata, akár száraz por, akár tömény oldat alakjában adagoltam is. Így tehát a rézszulfát és higanyszulfát katalizátorok közt kellett választanom a koloriméteres meghatározások céljára. A kísérletekből kiderült, hogy a merkuriszulfátos roncsolmányok erre a célra nem alkalmasak, csupán a rézszulfát katalizátor alkalmazásával kapott roncsolmányok használhatók koloriméteres módszerem kivitelére abban az esetben, ha mind az extinkciós koefficiens meghatározásra az ammonszulfát törzsoldatokat, mind pedig a vakpróba oldatokat legalább is megközelítőleg ugyanakkora rézszulfát, nátriumszulfát és kénsav koncentrá-

cióra állítjuk be, mint amekkora a roncsolmányokban szerepel. Ezért szükséges a roncsolást szigorúan a következő előírás betartása mellett végezni, hogy a Kjeldahl-desztillálási eljárással megegyező pontosságú eredményeket kapjunk.

Szükséges vegyszerek és oldatok. 1.) Vegytiszta tömény kénsav. 2.) Vegytiszta vízmentes nátriumsulfát poritva. 3.) Vegytiszta kristályos rézszulfát, $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ poritva. 4.) 1 százalékos Folin kémszer oldat; 5.) 0,25 százalékos fenolftalein oldat; 6.) 0,1 n nátriumhidroxid oldat; 7.) kb. 2 n nátriumhidroxid oldat; 8.) 4 százalékos borax oldat; 9.) savas formalin oldat; 10.) 0,1 nátriumtiosulfát oldat; 11.) 95—96 térfogat százalékos etanol vagy metanol; ezen kémszerek teljesen módszeren előírásai szerint (22) készüljenek. 12.) Ammonszulfát törzsoldat: 4,720 g vegytiszta, száraz ammonszulfátot, 2,00 g rézszulfátot és 20,0 g nátriumsulfátot kb. 500 ml ammoniamentes desztillált vízben oldunk, 100 ml kénsavat adunk hozzá és lehűtés után 20 C°-on ammoniamentes desztillált vízzel pontosan 1 l-re feltöltjük. Ez oldat minden ml-e 1,000 mg nitrogént tartalmaz. Ebből az oldatból mérünk ki pontosan mikropipettával 0,05—0,10 ml-t vagy megfelelő mértékben hígítjuk ammoniamentes desztillált vízzel az extinkciós viszonyszám meghatározására, amikor is a bemérések pontosabbak lehetnek. 13.) Vakpróba törzsoldat az extinkciós viszonyszám meghatározásához: 2,00 g rézszulfátot, 20,0 g nátriumsulfátot és 100 ml kénsavat az előbb leírt módon ammoniamentes desztillált vízzel pontosan 1 l-re oldunk. Ezt az oldatot, illetve megfelelő mértékű hígításait használjuk. 14.) Ammoniamentes desztillált víz; a módszer előírása (22) szerint készítjük és tartjuk el.

Szükséges felszerelés: A módszernél (22) 1.)—8.) pontban leírt felszerelésen kívül szükségesek még: 9.) cigarettapapíros, vagy kb. hasonló nagyságúra vágott selyempapíros. 10.) Kis átmérőjű üvegyöngy. 11.) 100 ml-es Kjeldahl-lombikok Ergon, vagy Duran üvegből. 12.) Roncsolóállvány Bunsen égőkkel felszerelve. 13.) Jó huzatu vegyi fülke.

A roncsolás kivitele. A szükséges számú cigarettapapírost finom olló segítségével analitikai mérlegen pontosan egyező súlyuakra vágjuk; az egyik darab lesz a roncsolási vakpróba tárgya, a többiek a vizsgálandó, lehetőleg finomra aprított anyagokat mérjük le és becsomagolva a Kjeldahl-lombikokba dobjuk őket. Folyékony anyagokat előre lemért kis vékonyfalú ampullákba (amilyeneket magunk is könnyen készíthetünk) szívunk fel, leforrasztjuk, kihűlés után lemérjük, a Kjeldahl lombikba dobjuk és erős rázással összetörjük. A minták tömege

akkora legyen, hogy közel 10 mg nitrogén legyen jelen bennük. Ezután minden lombikba 200 mg. rézszulfátot, majd 2,00 g nátriumszulfátot adunk be hosszúszerű üvegtölcsér segítségével, savpipettával 10,0 ml kénsavat mérünk hozzájuk, 2 üvegyöngyöt is beledobunk és ismeretes módon tökéletesen elroncsoljuk, a világoskék szín elérése után még negyed óráig mérsékelten forraljuk. Ezután lehűlni hagyjuk, kb. 90 C°-ra, kis részletekben hozzáadott ammoniamentes vízzel kb. 50 ml-re felhígítjuk, 100 ml-es mérőlombikba gondosan átmoszuk, majd 20 C°-on jelig feltöltjük. Teljesen ugyanígy és egyidejűleg roncsoljuk el a vakpróba részére féltett papírost és készítjük el roncsolmányát. Minthogy aránylag csekély mennyiségű szerves anyagról van szó, a roncsolás 1—2 óra alatt be szokott fejeződni. A katalizátorok bemérését meggyorsíthatjuk, ha előre elkészítjük 2000 mg nátriumszulfát és 200 mg rézszulfát sokszorosának, pl. 100-szorosának, keverékét porcellánmozsárban való gondos eldörzsölésével; ekkor egy meghatározáshoz 2200 mg-ot mérünk be a lombikba. Sőt üvegsóból mércét is készíthetünk e mennyiség le mérésére. Természetesen a vakpróba-hoz és extinkciós viszonyszámhoz is ezt használjuk. A katalizátor keveréket jól záró üvegdugós porüvegben nedvességtől óvva tartjuk el.

A szín kifejllesztése és a meghatározás kivitele teljesen úgy történik, amint azt az ammónia meghatározására szolgáló koloriméteres módszeremnél leírtam (22) Egyetlen eltérés csupán az, hogy az extinkciós viszonyszámot a rézszulfátos törzsoldatból vagy hígítmányból határozzuk meg a rézszulfátos vakpróbával vagy ugyanolyan mértékű hígítmányával szemben. A vizsgálati anyagok roncsolmányainak extinkcióját a roncsolási vakpróbával szemben olvassuk le. Miután a roncsolmány nitrogéntartalmát előzetesen nem ismerjük, ajánlatos 0,50 és 1,00 ml-es részlegeiből kiindulva végezni az előmeghatározást. Ha kiderül hogy a roncsolmány túl sok nitrogént tartalmaz, akkor ajánlatos az eredeti roncsolmányból 10,0 ml-t pontosan 100 ml-re hígítva elvégezni a meghatározást. Az extinkciós viszonyszámot a rézszulfát jelenléte befolyásolja, (így például a rézszulfátos törzsoldat esetében 0,0959 mikrogram volt az extinkciós viszonyszám) azért mindig a meghatározásnak megfelelő koncentrációjú rézszulfátos standard oldattal kell meghatározni a kérdéses extinkciós viszonyszámot. Ezért kell a megadott roncsolási előírást betartani, a nátriumszulfát és rézszulfát mennyiségét minden lombik számára legalábbis cg-nyi pontossággal külön-külön lemérni és beleadni.

Az eljárás pontosságának és megbízhatóságának bemutatására közlöm néhány nitrogén tartalmú anyag meghatározásának eredményét. A leírt módon történt elroncsolás után a roncsolmányokból az ammóniát egyrészt WAGNER—PARNAS készülékből 0,01 n kénsavba ledesztillálással, másrészt új koloriméteres módszeremmel határoztam meg. Az egyes eredmények 3 párhuzamos meghatározás középértékét jelentik.

Anyag	Nitrogéntartalom %		Eltérés %
	desztillálással	koloriméteresen	
Kereskedelmi kazein ...	14,51	14,30	—1,45
Casamin	12,16	12,13	—0,24
Szárított kalács.....	2,34	2,36	+0,87
Karbamid	46,47	46,91	+0,36

Amint látható, a megegyezés igen jó.

Ezúton is köszönetet mondok ASBÓTH Károlyné, GYŐRI Jenőné és BERGOVITS Erzsébet asszisztenseknek a nitrogén tartalom desztillációs úton végzett meghatározásával nyújtott segítségükért.

IRODALOM

- (1) Rémy, I. és Pitiot, J: Bull. Soc. Chim. Biol. 33. 405. 1951.
- (2) Schöniger, W: Mikrochim. Acta, 44—48. 1955.
- (3) Bradstreet, R. B: Anal chem. 26. 185. 1954.
- (4) Keys, A: J. Biol. Ch. 132. 181. 1940.
- (5) Thompson, J. F., és Morrison G. R: Anal. Chem. 23. 1153. 1951.
- (6) Hiller, J., Plazin, R. és Van Slyke, D. D: J. Biol. Ch. 176. 1401. 1948.
- (7) Korpáczy, I: Nem közölt jodométeres módszerében.
- (8) Middleton, H. és Stuckey, P. W: Idézve BRADSTREET cikke alapján (3). Zschr. anal. Ch. 137. 377. 1953.
- (9) Mc Cutchan, P., és Roth, W. F: Anal Chem. 24. 369. 1952.
- (10) Polley, R: Anal. Chem. 26. 1523. 1954.
- (11) Borsook, H. és Dubnoff: J. Biol. Ch. 142. 977. 1942.
- (12) Tomkins, E. és Kirk, P.: J. Biol. Ch. 142. 977. 1942.
- (13) Sobel, A. E., Mayer, A. M. és Gottfried, S. P: J. Biol. Ch. 156. 355. 1944.
- (14) Kulen, M. J: Gigena i Sanit. 11. füz. 39. 1949.
- (15) Hadorn, H., Jungkunz, R. és Biejer K. W: Mitteil. 44. 14. 1953.
- (16) Rappaport, F: Mikroch. 14. 49. 1933/4.

- (17) *Bencze, B*: *Angew. Chem.* 129. 126. 1949.
 (18) *Levy, M. és Palmer, A*: *J. Biol. Ch.* 136. 57. 1940.
 (19) *Robinson, F., és Shellenberger, J*: *Ind. Eng. Ch. An. Ed.* 4. 243
 1932.
 (20) *Harvey, H. W*: *Analyst*, 76. 657. 1951.
 (21) *Beel, A. E*: *Anal. Chem.* 27. 1035. 1955.
 (22) *Korpáczy, I*: *Élelmiszervizsgálóati Közl.* III. 55. 1957.

EINE NEUE KOLORIMETRISCHE METHODE ZUR QUANTITATIVEN BESTIMMUNG DES ORGANISCHEN NITROGENGEHALTES

I. Korpáczy

Verfasser berichtet über seine Versuche um sein neues kolorimetrisches Verfahren zur Bestimmung des Ammoniaks auf Kjeldahl'sche Digestionsmischungen zu übertragen. Nur das Digerieren der organischen Verbindungen mit Kupfersulfat als Katalysator und Natriumsulfat als Siedepunkterhöher hat sich bewährt. Das erwähnte kolorimetrische Verfahren kann ohne jede Änderung benutzt werden, nur der Extinktionsfaktor soll mit einer Standardlösung bestimmt werden, welche eine ähnliche Konzentration an Natriumsulfat, Kupfersulfat und Schwefelsäure haben muss, wie die betreffende Digestionsmischung. Diese Forderung aber ist leicht erfüllbar.

UNE NOUVELLE MÉTHODE POUR LE DOSAGE COLORIMÉTRIQUE DU CONTENT EN AZOTE ORGANIQUE

I. Korpáczy

L'auteur a fait beaucoup des experiments pour adopter sa nouvelle méthode colorimétrique du dosage de l'ammoniac aux digestion-mixtures selon Kjeldahl. La digestion avec les sulfates de sodium et cuivre comme catalyseurs se présente comme satisfaisante. Dans telles digestion-mixtures la nouvelle méthode de l'auteur se laisse appliquer sans aucune altération. Seul l'indice d'extinction est à déterminer avec une standard solution de sulfate d'ammonium contenant les sulfates de sodium, cuivre et l'acide sulfurique en proportions égales à la digestion-mixture elle-même. Mais cette condition est facilement remplie.

A NEW COLORIMETRIC METHOD FOR ESTIMATING THE ORGANIC NITROGEN CONTENT

I. Korpáczy

Author describes his many experiments to find the way of adopting his new colorimetric method to estimate the ammoniac content of ammoniacal salts to check the nitrogen content of Kjeldahl-digests. He succeeded in stating that digestion with sodiumsulfate and copper-sulfate as catalysts gives a solution available for applying his method. There is no need of any alterations, the standard ammoniumsulfate solution only is to be prepared in such a way that it should contain sodiumsulfate, copper-sulfate and sulfuric acid in the same proportions like the digest in question. But this is not at all difficult to fulfill.

A hús pH értéke és pácolhatósága közötti összefüggésekről

KÖRMENDY LÁSZLÓ és GANTNER GYULA

Konzerv, Hús és Hűtőipari Kutatóintézet, Budapest

Érkezett: 1957. május 20.

Banfield és *Callow* tanulmányaikban érdekes észrevételeket közölnek a hús pH értéke és elektromos ellenállása közötti összefüggésekről (1, 2). Többek között megállapították, hogy a húsnál magasabb pH értékhez nagyobb elektronos ellenállás is tartozik. Ezt a jelenséget annak tulajdonítják, hogy a pH emelkedése az izomrostok duzzadását eredményezi, melynek következménye azután azoknak a sejtek és rostok közötti hézagoknak összeszűkülése, melyeken keresztül az ionok szabadon vándorolhatnak. *Callow* tömör állományú „nyílt”, valamint „nyúlós”, „petyhüdt”, száraz tapintású „zárt” struktúrát különböztet meg. Fenti jelenségek — *Callow* és *Ingram* (3) szerint — a hús pácolhatóságával is összefüggésben vannak. Az alacsony pH értékkel rendelkező, kisebb elektromos ellenállású hús a sóoldatok számára is könnyebben átjárható. Ebből természetesen az következik, hogy a hűsipari pácolás céljaira felhasznált nyersanyagot célszerű úgy kiválasztani, kezelni és tárolni, hogy pH értéke lehetőleg savanyú irányba tolódjon el, miután az ilyen nyersanyag pácolás szempontjából feltétlenül előnyösebb.

Külön említést érdemelnek *Gibbons* és *Rose* (4) kísérleti eredményei, akik alacsonyabb pH értékű nyersanyagokból kiindulva a pácolásnál valamivel kedvezőbb színiaalakulást észleltek; a pH érték és sótartalom között azonban nem kaptak szoros összefüggést. Igaz ugyan — mint közleményünkben erre maguk is utalnak — kísérleti körülményeik egyöntetűségének hiánya (pl. a vizsgált minták egymástól eltérő vastagsága, stb.) miatt az utóbbi kérdésre nem tudtak megnyugtató, biztos felelet adni.

Előző közleményünkben (5) már beszámoltunk azokról a vizsgálati eredményekről, melyeknél a friss, meleg, magas pH értékű nyershúsok viselkedését tanulmányoztuk pácolhatóság szempontjából. Megállapítottuk, hogy a sóbehatolás időbeli változása tekintetében nem volt érzékeny különbség a friss (vágás u. 1,5—2 óra) és a 24 óráig vagy hosszabb ideig tárolt nyersanyagok között, annak ellenére, hogy pH érték, állomány stb. tekintetében igen lényeges eltéréseket tapasztaltunk. Természetesen figyelembe kellett vennünk azt is, hogy a magas pH értékkel ren-

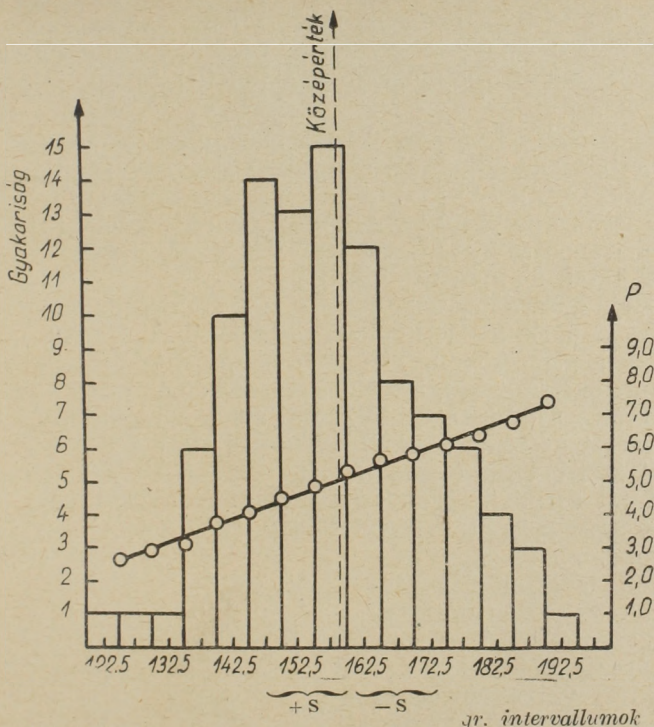
delkező friss marhahús biokémiailag „labilis” állapotúnak tekintendő. A biokémiai átalakulások (A T P, glikogén bomlása, tejsavképződés stb.) a vágás után eltelt 24 órában igen nagy gyorsasággal mennek végbe; a további hűtőtárolás alatt a hús fiziko-kémiai sajátosságai, állománya, pH-értéke már lényegesen lassabban változik. Nyilvánvaló ezért, hogy ilyen esetekben a pácolás alatt, különösen az első 24 órában a sópenetrációval egyidejűleg ezek az átalakulások is lejátszódnak, de nincs tapasztalatunk arra nézve, hogy a szöveti sóbehatolás milyen értelemben befolyásolja a fent említett folyamatokat.

Jelen közleményünkben azokról a kísérleteinkről kívánunk beszámolni, melyeknél a pácolhatóság és pH érték közötti összefüggést legalább 48 óráig pihentetett, pH értéküket lényegesen lassabban változtató, tehát biokémiailag viszonylag „stabil” húsokon tanulmányoztuk.

Vizsgálati módszerek

A vizsgálati anyag egyenletességének biztosítására kísérleteinknél mindig sertéshúst (karaj-rész) használtunk. A kísérletek reprodukálhatóságát a hús pácolását befolyásoló paraméterek ismeretében (5, 6) — a külső körülmények szigorú betartásával igyekeztünk biztosítani. A vizsgálatok céljaira rendelkezésünkre álló $+2$ — $+6$ C°-on 2—6 napig hűtőben tárolt sertéskarajokból egy 5 cm belső átmérőjű, egyik végén kiélelt acélsővel henger alakú mintadarabokat fűrtünk; megállapítottuk ugyanis, hogy ilyen módon lehet aránylag a leg-egyenletesebb átmérőt biztosítani. A hús-hengerek fűrése a gerinc irányával párhuzamosan történt. Csak a zsír és durvakötőszöveti elemektől mentes húsdarabokat használtuk fel kísérleteinkhez. Fűrés után a hengerek hosszúságát minden alkalommal 10 cm-re állítottuk be. Mint az 1. ábrán látható — minden igyekezetünk ellenére — a hús minőségétől függően különböző súlyú, tehát — azonos hosszúságokról lévén szó — különböző átmérőjű mintadarabokat kaptunk.

A 10 cm hosszúságú hengerek súlya 122—200 g között (közéérték 158 g) váltakozott (102 db.) A standard eltérés ($S = \pm 14,4[9,1\%]$) mindenesetre nem volt túl nagy. Az 1. ábrából az is kitűnik, hogy a probit analízis közelítőleg normális eloszlást mutatott ki. Miután egy adott átlagos sókoncentráció eléréséhez szükséges pácolási időtartam durván az átmérők négyzetével ill. jelen esetben a hengerek súlyával arányos, ezért a súlyingadozásokból eredő befolyást a pácolási folyamat sebes-



1. ábra. Hús-hengerek súlyainak eloszlási diagrammja
Hengerek hossza: 10 cm

P = probit értékek

S = standard eltérés (szórás)

ségére a parciális korrelációs koefficiensnek számításával igyekeztünk kiküszöbölni. (7)

A lé-húsarányt az üzemi gyakorlathoz alkalmazkodva mindig 1 : 1-hez állítottuk be.

A felhasznált páclé összetétele; 20.4 ± 0.2 g NaCl + 0.4 ± 0.03 g KNO_3 pro 100ml.

A kísérletekhez előkészített, előzetesen hűtőszekrényben (+2 — +5 C°) tárolt mintadarabokat 400 ml-es főzőpoharakba helyeztük el, majd mérőhengerből a megfelelő térfogatú, +2 — + 5 C°-hőmérsékletű pácoldatot adtuk hozzá, óraüveggel lefedtük és +2 — +5 C°-on jégszekrényben pontosan 24 óráig

tároltuk. A kísérlet időtartama alatt a páclé teljes nyugalomban volt. 24 óra elteltével a hengereket a léből kiemeltük és meghatároztuk a páclé sókoncentrációját. A hús átlagos sókoncentrációját az alábbi összefüggés alapján állapítottuk meg:

$$C_{24} = p (d_0 - d_{24}) \quad \text{ahol}$$

p = lé-hús térfogatarány; ml páclé/ml hús

A p értékét az alábbi összefüggés adja:

$$p' = p' S_0 = p' \cdot 1,067 = 1,067 \quad \text{ahol}$$

p' = lé-húsarány; ml páclé/g hús (jelen kísérleteinknél 1,0)

S_0 = sómentes hús átlagos fajsúlya; g/ml (régebbi vizsgálataink alapján (6) 1,067)

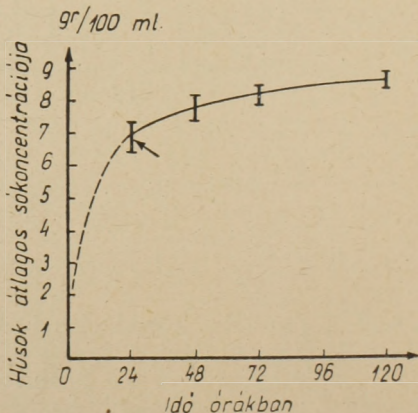
C_{24} = a hús átlagos sókoncentrációja 24 óra múlva; g/100 ml

d_0 = a páclé kezdeti sókoncentrációja; 20,4 g/100 ml

d_{24} = a páclé sókoncentrációja 24 óra múlva; g/100 ml

Fenti összefüggés szigorúan csak akkor érvényes, ha nincs térfogatváltozás a diffúziós folyamat alatt. Vizsgálataink tanulságai szerint azonban a 24 órás pácolás alatt a hús 3—5%-os duzzadását lehet kimutatni. Az így elkövetett szisztematikus hibát a jól definiált, azonos külső körülményekre való tekintettel — összehasonlító vizsgálatokról lévén szó — nem vettük figyelembe.

Külön meggondolás tárgyává tettük azt az időtartamot, mely után a sótartalom meghatározását el kellett végeznünk. Hibaszámítással ugyanis kimutatható (6), hogy diffúziós folyamatoknál a diffúziós állandó értékét a folyamat középső szakaszában lehet a legkisebb mérési hibával meghatározni; túl hosszú időtartamok esetén a kiegyenlítődési koncentráció közelében a meghatározások pontatlanokká válnak. Mint a 2. ábrán látható, az általunk vizsgált 10 cm hosszúságú mintadaraboknál a 24 óra után észlelt sókoncentráció-értékek a kiegyenlítődési koncentrációtól elég távol helyezkedtek el.



2. ábra. Sókoncentráció változása a pácolási időtartam függvényében húshengereknél

Vizsgált minták száma 11 db.
Hengerek súlya: 125—180 gr között,
átlag; 152 gr. Hengerek hossza :
10 cm

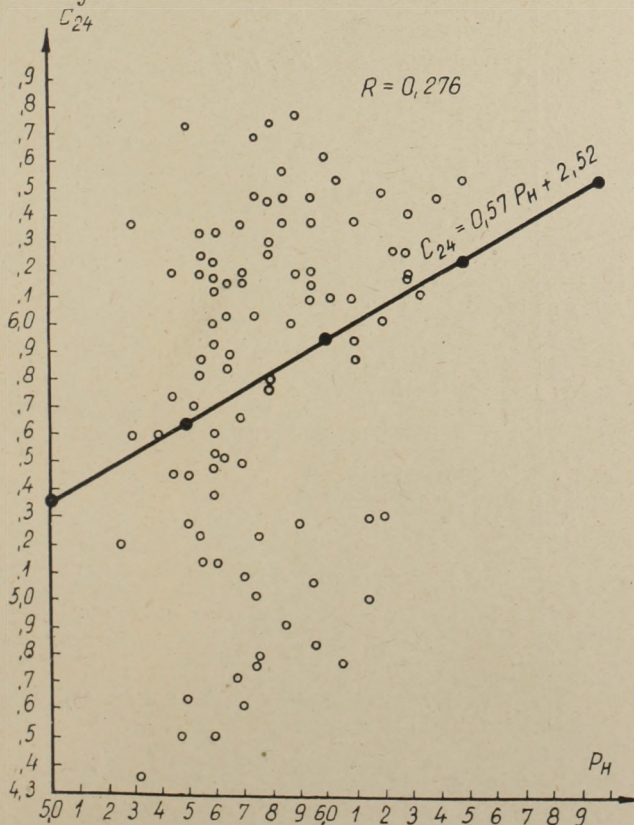
Összehasonlító méréseink céljaira tehát a 24 óra alatt elért átlagos sókoncentrációt (C_{24}) jó közelítéssel tekinthettük a diffúziósebesség mérőszámának.

A színkialakulás jelenségeinek vizsgálatára külön figyelmet nem fordítottunk.

A pH meghatározását a nyers, sómentes húsból chinhidron elektróddal végeztük. A pácolás folyamata alatti pH változást nem kísértük figyelemmel.

Vizsgálati eredmények

102 db különböző minőségű sertéshúst vizsgáltunk meg. Az eredményeket a 3. és 4. ábrán tüntettük fel.

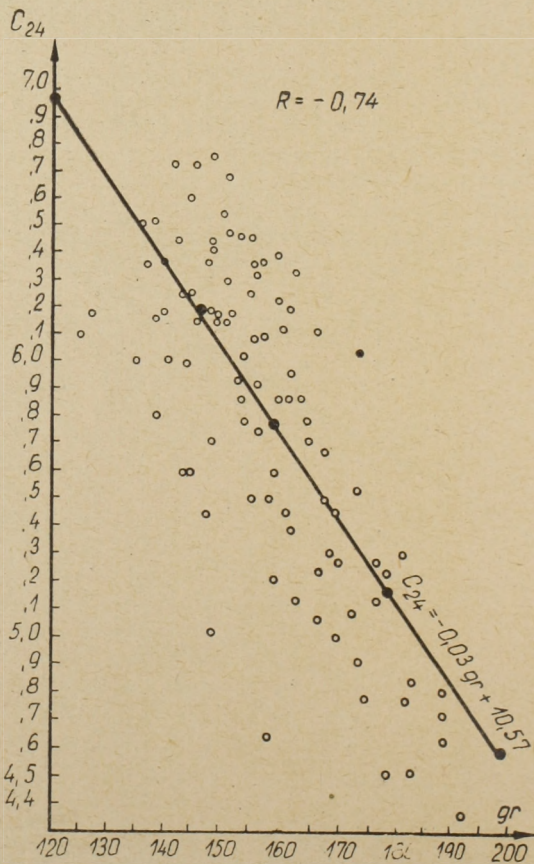


3. ábra. A hús pH értéke és pácolási sebessége (C_{24}) közötti összefüggés a regressziós egyenes ábrázolásával.

A korrelációszámítás eredményeiből az alábbi következtetéseket vonhatjuk le:

1. A hús pH értéke és a sóbehatolás sebessége (C_{24}) között — az átmérő-ingadozások figyelembevételével — nincs szoros összefüggés. A korrelációs koefficiens ($R_{C_{24}, pH} = 0,276$) értéke igen alacsony bár ilyen nagyszámú mérésnél erősen szignifikánsnak mutatkozott.

2. A sóbehatolás sebessége (C_{24}) és az átmérők négyzetével arányos hengerek súlya között (g) szoros összefüggés van.



4. ábra. A hús pH értéke és súlya (g) közötti összefüggés a regressziós egyenes ábrázolásával.

A korrelációs koefficiens ($R_{c_{21}, g} = -0,74$) értéke elég magas és igen erősen szignifikáns.

3. A hengerek súlya és pH értéke között nincs szoros összefüggés. ($R_{g, pH} = -0,204$) (A korrelációs koefficiens szignifikanciájából gondolni lehet arra, hogy a hús pH értéke bizonyos mértékig befolyásolhatja az azonos átmérőjű acélcsővel kifűrt hengerek vastagságát. Ez azonban nincs bizonyítva).

4. A hús pH értéke és a sóbehatolás sebessége között az átméringadozások kiküszöbölésével (konstans átmérők mellett) *nincs összefüggés*. A parciális korrelációs koefficiens ($R_{c_{21}, pH \overline{g}} = 0,19$) nem szignifikáns!

5. A sóbehatolás sebessége és a húsdarabok súlya között a pH ingadozások kiküszöbölésével (azonos pH értékű minták esetén) továbbra is *igen erősen szignifikáns*, szoros összefüggés van. ($R_{c_{21}, g, \overline{pH}} = -0,727$)

A C_{21} és g értékek között valószínűleg nincs lineáris kapcsolat. Miután azonban a hengerátmérők nem túl széles határok között ingadoztak (l. 1. ábrát) az általunk vizsgált tartományban, a lineáritási próba ezt nem mutatta ki.

Vizsgálati eredményeinket összegezve megállapíthatjuk, hogy a fent ismertetett körülmények között a vizsgált húsok pH értéke és az izomszövet sóoldatokkal szembeni átjárhatósága között nem tudtunk szoros, statisztikailag is igazolt összefüggést kimutatni. Kísérleteink ezért *Callow* megállapításait nem igazolták. Meg kell jegyeznünk azonban azt is, hogy a vizsgált minták aránylag szűk pH intervallumban ingadoztak. $pH = 6,8-7,0$ közötti tartományban nem volt egyetlenegy mintadarab sem.

IRODALOM

- (1) *Bate-Smith*: Adv. in Food Res. I. 1948. (Academic Press Inc., Publishers, New York, N. I.)
- (2) *Callow*: Brit. Journ. Nutrition 1, 269. 1947.
- (3) *Ingram*: Ann. Inst. Pasteur 75, 139. 1948.
- (4) *Gibbons-Rose*: Can. J. Res. 28, F. 438, 1950.
- (5) *Körmeny-Gantner*: Élelmiszervizsgálati közlemények II. 179. 1956.
- (6) *Körmeny-Gantner*: Angaben zu den Fragen der Technologie des Pökels in der Fleischindustrie (kéziratban).
- (7) *Weber, E*: Grundriss der biologischen Statistik (Jena, 1956).

ЗАВИСИМОСТЬ ВОЗМОЖНОСТИ ПОСОЛЬКИ МЯСА ОТ
ЗНАЧЕНИЯ pH ПОСЛЕДНЕГО

Л. Керменди и Дь. Гантнер

Авторы исследовали возможность посольки мяса в зависимости от значения pH свинины. При исследовании особенное внимание обра

тили на воспроизводимость условий. На основе полученных результатов не имеется возможность установить определенную связь значения рН мяса со скоростью проникновения соли.

ÜBER DIE ZUSAMMENHÄNGE DES pH-WERTES UND DER PÖKELBARKEIT VON FLEISCH

L. Körmendy und Gy. Gantner

Verfasser stellten sich die Aufgabe, den Zusammenhang zwischen dem pH-Werte und der Pökelfähigkeit des Schweinefleisches (Karbonatanteil) zu untersuchen. Sie verwendeten die grösste Sorgfalt zur Sicherung der Einheitlichkeit ihrer Experimente. Auf Grund ihrer Resultate konnten sie keinen signifikanten Zusammenhang zwischen dem pH-Werte des Fleisches und der Eindringungsgeschwindigkeit des Salzes nachweisen.

LE RAPPORTS DE LA VALEUR pH DE LA VIANDE, AVEC LA FACULTÉ D'ÊTRE MARINÉE

L. Körmendy et Gy. Gantner

Dans le cas du carré de porc, les rapports de la valeur pH et de sa faculté d'être mariné étaient le sujet des recherches exécutées par les auteurs. Conserver la conformité de ces analyses, c'était leur soin particulier. A base des résultats obtenus, les auteurs ne réussirent pas à établir une relation significative entre la valeur pH du porc et de la vitesse de la pénétration du sel dans celui.

MŰSZAKI FEJLESZTÉS — GYAKORLATI KÖZLEMÉNYEK

Élelmiszerek természetes ólomtartalmának és ólomszennyezettségének meghatározása

SÁNDI EMIL

Technikai munkatársak: Sz. PINTÉR MARGIT és L. HUSZÁR VERONIKA

Országos Élelmezés és Táplálkozástudományi Intézet, Budapest

Érkezett: 1957. május 23.

Az ólom, mai tudásunk szerint nem tartozik a „bioelemek” közé, az élőlények szervezetében, bár kis mennyiségben rendszeresen megtalálható, hasznos funkcióját nem, de káros hatását ismerjük. Az emberi szervezethez a különböző utakon bejutó ólom csak kis mértékben ürül ki, nagyobb része a csontokban tartósan lerakódik. Ez a méregtelenítési folyamat azonban csak akkor eredményes, ha lépést tud tartani a bejutó ólom mennyiségével. A legutóbbi évtizedekben az az élettani megfontolásokon és toxikológiai kísérleteken alapuló nézet alakult ki, hogy napi *egy milligramm* a felső határa annak az ólom mennyiségnek, amely egészséges felnőtt ember szervezetébe kerülve még ártalmatlannak tekinthető (*Issekutz* (1), *Moeschlin* (2)). Ez a körülmény súlyos feladatokat ró az élelmiszeriparra és nemkülönben az ellenőrző szervekre, különösen ha tekintetbe vesszük, hogy az ólom nemcsak élelmiszerekből, ivóvízből az emésztőrendszeren keresztül, hanem belégzés útján a levegő porával is számottevő mennyiségben kerülhet a szervezetbe. (Érdekes megemlíteni ezzel kapcsolatban, hogy *Jecklin* (3) szerint egyedül a kis Svájcban évente *165 000 kg ólom* kerül a levegőbe ólomtetraetil-tartalmú motorbenzin használata következtében).

A különböző országok hivatalos előírásai egyre inkább tekintetbe veszik ezeket a tényeket és ma már jóval kisebb mennyiségű ólomszennyezést tartanak megengedhetőnek az élelmiszerekben, mint néhány évvel ezelőtt. A rendelkezésünkre

álló legújabb irodalmi adatok alapján az I. táblázatban kivonatosan közöljük az 1950. évi francia (4) és 1954. évi angol (5) előírásokat, illetve javaslatokat.

A magyar szabványok (6, 7) amelyek csak tartósított élelmiszerekre vonatkozóan intézkednek, felső határként általában érvényrel 1 mg/kg ólmot tartanak megtehetőnek. Ez az előírás az élelmiszerek mindegyikére nem terjeszthető ki, sőt a tartósított élelmiszerek egy részénél a természetes ólomtartalom várható nagysága miatt, be sem tartható. A külföldi példákhoz hasonlóan az egyes élelmiszerekre és járulékos anyagokra, tekintetbe véve fogyasztásuk mértékét, természetes ólomtartalmukat és — bizonyos esetekben és csakis fenntartással — technológiai adottságainkat, nálunk is külön-külön határértékek előírására van szükség.

I. táblázat

Élelmiszerek eltűrhető legnagyobb ólomtartalma

	francia	angol
	mg/kg ill. mg/l.	
Élelmiszerek általában	2,5	2,0
Ivásra kész italok (pl. narancslé)	0,3	0,2
Tömény italok (pl. szörp, pálinka)	0,3	0,5
Bor, sör	0,3	0,5
Étolaj, zsír	2,0	0,5
Tej	0,5	x)
Cukor finomított	1,0	0,5
Hús és halkonzerv	x)	5,0
Száritott főzelék	x)	5,0
Gabona és termékei	8,0	2,0
Kakaó, zsírintes	x)	5,0
Tea, fűszerek, szintetikumok	x)	10,0
Cukorka, édesség	1,0	2,0

x) Külön határértéket egyelőre nem közöltek.

Egészségügyünk és egyben élelmiszerexportunk érdeke azt kívánja, hogy a magyar élelmiszeripar is képes legyen betartani az ólomtartalomra vonatkozó nemzetközileg javasolt és előírt

felső határértékeket. Ellenőrző Intézeteink nagyban hozzájárulhatnak ennek a célnak eléréséhez — ehhez azonban igen sok vizsgálat elvégzése szükséges és olyan ólommeghatározási módszer, amely bármilyen élelmiszerre alkalmazható.

Ellenőrző Intézeteinkben ma általában, élelmiszerek vizsgálata esetén, az ólommeghatározás két típusa van elterjedve: az Intézetünkben *Cieleszky* által kidolgozott és szabványokban lefektetett (6, 7) ditizonos határértékmódszer, illetve keverék-szintitrálás és az ugyancsak *Cieleszky* — *Sz. Pintér*-féle polarográfiás eljárás (8). Mindkét módszer a legtöbb esetben alkalmas élelmiszerek természetes ólomtartalmának és így természetesen ólomszennyezettségének meghatározására, kis mennyiségű minta felhasználásával. A régebben szinte kizárólag alkalmazott és még ma is használatos ólomszulfidos eljárás, kis érzékenysége miatt, a mai követelményeknek már nemigen felel meg. Az emissziós spektrografiás módszer, bár rendkívül érzékeny, csak megfelelő felszerelés és nagy felkészültség mellett, az élelmiszerek esetében a szokásosaknál bonyolultabb előkészítő műveletek után alkalmazható.

A fentemlített két módszer — a ditizonos és a polarográfiás — van elterjedve külföldön is. Mindkettőt az élelmiszerekben előforduló több anyag zavarja, úgy hogy e módszerek továbbfejlesztése elsősorban a minta előkészítésének és a zavaró anyagok kiküszöbölésének tökéletesítésére irányul. A jelen közlemény is ezen a területen kíván Magyarországon eddig nem alkalmazott eljárást bevezetni.

A ditizonos ólommeghatározást zavaró legtöbb anyagot jól bevált és ismert módon lehet kiküszöbölni. A nehézfémek, a bizmut kivételével, cianiddal „fedhetők” el, az oxidáló anyagok, elsősorban a ferrisav zavaró hatása hidroxilammal, vagy más redukálószerrel küszöbölhető ki, míg a foszfát jelenlétében kicsapódó alkáli földfémek és alumínium, melyek az eljárást szintén zavarják, citráttal vagy tartaráttal tarthatók oldatban.

Élelmiszereink jelentős részénél azonban a zavaró anyagok — Ca^{++} , Mg^{++} , Fe^{+++} , PO_4^{---} és esetleg a SiO_2 — mennyisége oly nagy, hogy a fentleírt módon nem lehet hatásukat kiküszöbölni és jelenlétükben az ólommeghatározást nem lehet a kívánt pontossággal elvégezni, sőt egyes esetekben a meghatározás lehetetlenné is válik. A legutóbbi évek szigorú előírásai sok helyütt intenzív kutatómunkát váltottak ki és több olyan javaslat jelent meg, amelynek célja e nehézségek megkerülése volt.

A hivatalos *U.S. A. módszerkönyv* (9) sok foszfát jelen-

létében (pl. kakaó, halkonzerv és tea esetében) a közvetlen ditizonos módszer helyett visszatér az ólom-szulfidos elválasztásra, amelyet miután ez savas közegben történik, a foszfát jelenléte nem zavar. Hasonlóképpen jár el a *szovjet szabvány-eljárás* (10) is. *Johnson és Polhill* (11) nátrium hexametáfoszfát segítségével tartja oldatban az alkáliföldfémeket és ezt a megoldást vette át legújabban *Neumann* (12) is. Az angol *Analitikai Módszerbizottság* (13) 1950-ben több vizsgálóintézet bevonásával kritika tárgyává tette az addig rendelkezésre álló eljárásokat és négy év munkája nyomán egy olyan módszert tett közzé, amely gyakorlatilag bármely élelmiszerre, vagy egyéb biológiai anyagra alkalmazható.

Egy adott esettel kapcsolatosan ez utóbbi eljárást Intézetünk Fizikai-Kémiai osztályán is beállítottuk. Hazai viszonyokra való alkalmazása során azonban egy sor nehézséget kellett leküzdenünk, aminek folyamán sikerült az eljárást oly módon megváltoztatnunk, hogy most Vizsgáló Intézeteink rendelkezésére bocsáthatjuk. Az angol Analitikai Módszerbizottság ugyanis, sok eredménytelen kísérletezés után, finom vegyszereket szállító cégeket is bevont az eljárás kidolgozásába és ezek olyan vegyszereket készítettek erre a speciális célra, amelyek kg-ként csak 10 mikrogramm ólmot tartalmaztak. Ilyen vegyszerek hiányában eljárásunkba be kellett építenünk a vegyszerek tisztítását is, amely műveletet az esetek egy részében *in situ*, vagyis felhasználás közben végezhetünk el.

Az eljárás vázlatos leírása

A módszerünk alapját képező közismert ditizonos ólom-meghatározás, valamint a ditiokarbamátos elválasztás elméleti részére itt nem térünk ki. A bonyolultnak látszó munkamenet könnyebb áttekinthetőségét azonban a következő vázlatos leírással és a közlemény végéhez mellékelt ábrával kívánjuk elősegíteni.

Az élelmiszermintát oxidálószerrel elősegített elhamvasztása után a sósavas törzsoldatból az ólmot dietilammonium-dietilditiokarbamát kloroformos oldatával rázzuk ki. A foszfátoktól, alkáliföldfémektől, alumíniumtól és a vas zömétől így elválasztott, az összes ólmot tartalmazó kloroformos oldatot kénsav + perklórsav segítségével elroncsoljuk. A roncsolási törzsoldatból az ólmot ammóniás, „fedőanyagos” közegből ditizon-komplex formájában kloroformos oldatba vesszük. A kloroformból a főlös ditizont híg kálumcianid-oldattal való összerázással

eltávolítjuk és a rózsaszínű ólomditizonát-oldat színének intenzitását fotométerrel mérjük, illetve ismert ólomtartalmú oldattal vizuálisan összehasonlítjuk.

Eredmények

Az alább részletesen közölt új eljárással eddig elért eredményeket a II. táblázatban állítottuk össze. Minden vizsgálatot egy vagy két olyan párhuzamos meghatározással egészítettünk ki, amelyeknél ismert mennyiségű ólmot adtunk a mintához a hamvasztás elkezdése előtt. Az ismert mennyiségű ólom visszanyerése alapján számított hiba, amint láthatjuk, nem haladja meg a 30 %-ot. A ditizonos nehézfém meghatározások tudvalevően általában 5—6%-os hibával végezhetők de tekintetbe véve, hogy eljárásunkat a zavaró anyagok hosszadalmas kiküszöbölésével kellett kiegészítenünk és valamint vizsgálataink célját is, a legfeljebb 30 %-os de az esetek nagy részénél ennél kisebb nagyságrendű hiba az eljárás használhatóságát nem befolyásolja. Megjegyezni kívánjuk, hogy az angol *Analitikai Módszerbiztonság* (13) által több intézetben elvégzetett 30 párhuzamos ólomvizsgálat kakaóban több mint 50 %-os szórást mutat, míg a szintén általuk közölt cukorszirup vizsgálatok (25 párhuzamos) még nagyobb eltéréseket is adtak. Ennek ellenére a vizsgálatok eredményeit megfelelőnek tartják.

A kémszerekből származó ólomszennyezés által okozott vakértéket minden esetben levontuk a táblázatban közölt eredményekből és ez az egyes vizsgálatosorozatokban, a mintára számítva 0,3—0,9 mg/kg ólomnak felelt meg.

Az eljárás menete

I. Szükséges eszközök

Hamvasztótégelyek, kvarcból, fedővel, 5—6 cm Ø.

Csak olyan tégelyek használhatók, amelyekben nagy ólomtartalmú anyagot még nem hamvasztottak.

Kjeldahl-lombikok, kvarcból, 50—100 ml űrtartalommal.

Választótölcsérek, 100—200 ml és 500—1000 ml űrtartalommal.

A választótölcsérek üvegcsapja olyan legyen, hogy csapszír használata nélkül se csepegjenek!

Hamvasztókemence, elektromos, szabályozható.

Spektrofotométer, fotométer, vagy koloriméter.

Élelmiszerek ólomtartalma
(Saját vizsgálatok eredményei)

Sorszám	A minta megjelölése	Bemért minta g	Pb a mintában mg/kg	Hozzáadott Pb mg/kg	Számított össz-Pb mg/kg	Talált össz-Pb mg/kg	Eltérés %	Megjegyzések
1	Kakaó I.	10	1,0	2,0	3,0	2,9	- 3	Ismeretlen gyártmány
	Kakaó I.	10						
2	Kakaó II.	10	0,6	2,0	2,6	1,8	-30	Svájci, cukrozott
	Kakaó II.	10						
	Kakaó II.	10						
3	Kakaó III.	10	2,7	2,0	4,7	4,6	- 2	Német, zsírmentes
	Kakaó III.	10	2,7					
	Kakaó III.	10	2,4					
	Kakaó III.	10	2,7					
	Kakaó III.	10	2,4					
	Kakaó III.	10	2,0					
	Kakaó III.	10	2,0					
	Kakaó III.	10	2,0					
4	„Csokoládé levespor”	10	0,3	2,0	2,3	2,0	-13	Svéd, cukrozott, lisztes
	„Csokoládé levespor”	10		4,0	4,3	4,0	- 7	
	„Csokoládé levespor”	10						
5	Csokoládéfigura I	10	15,6	2,0	17,6	17,6	Ø	erősen szennyezett!
	Csokoládéfigura I	10						
6	Csokoládéfigura II	10	8,6	2,0	10,6	8,6	-19	erősen szennyezett!
	Csokoládéfigura II	10						
	Csokoládéfigura II	10	7,9					
	Csokoládéfigura II	10	2,0					
7	Rumos meggy	13.5	1,1	1,5	2,6	3,2	+23	
	Rumos meggy	13.5	1,3					
	Rumos meggy	13						
	Rumos meggy	13	1,5					
8	Nougat	8,2	1,4	2,5	3,9	3,6	- 8	csokoládé küllemű termék
	Nougat	8,2	1,1					
	Nougat	7,9						
	Nougat	7,9	2,5					

Sorszám	A minta megjelölése	Bemért minta g	Pb a mintában mg/kg	Hozzáadott Pb mg/kg	Számított össz-Pb mg/kg	Talált össz-Pb mg/kg	Elterés %	Megjegyzések
9	Kakaó töret, pörkölt Kakaó töret, pörkölt	10	0,4					félkésztermék
		10		2,0	2,4	2,0	-20	
10	Kakaómassza I. Kakaómassza I.	10	0,8					félkésztermék
		10		2,0	2,8	2,6	-7	
11	Kakaómassza II. Kakaómassza II.	10	1,2					félkésztermék
		10		2,0	3,2	2,7	-15	
12	Csokoládé, formázott Csokoládé, formázott	10	2,0					félkésztermék
		10		2,0	4,0	5,0	+25	
13	Csokoládé formakaparék Csokoládé formakaparék	10	64!					ez szennyezte az 5—6. mintákat
		10	40!					
14	Kristálycukor I. Kristálycukor I. Kristálycukor I.	5	0,6					magyar gyártmány
		5		4,0	4,6	4,2	-9	
		5		8,0	8,6	8,0	-7	
15	Kristálycukor II. Kristálycukor II. Kristálycukor II.	10	0,8					magyar gyárt- mány sárgás
		10		2,0	2,8	3,0	+7	
		10		4,0	4,8	4,0	-20	
16	Kristálycukor III Kristálycukor III Kristálycukor III.	10	0,2					magyar gyárt- mány sárgás
		10		2,0	2,2	1,8	-18	
		10		4,0	4,2	3,4	-19	
17	Kristálycukor IV. Kristálycukor IV.	5	0,8					angol gyártmány
		5		4,0	4,8	3,6	-25	
18	„Mokka”- kockacukor „Mokka”- kockacukor „Mokka”- kockacukor	10	0,2					magyar gyártmány
		10		2,0	2,2	2,1	-5	
		10		4,0	4,2	4,8	+14	
19	Szilvaíz, házi Szilvaíz, házi	5	6,2					szennyezett, mázás agyag- edényben tárolt
		5		2,0	8,2	8,0	-2	
20	Gyümölcsíz, vegyes Gyümölcsíz, vegyes	10	1,5					magyar gyártmány
		10		2,0	3,5	2,7	-22	

A felsorolt üveg- és kvarc-edényzetet, valamint a többi, a módszer folyamán felhasznált üvegterméket (pipetták, poharak, büretták stb.) és a törzsoldatok, kémszerek tárolására használt edényzetet a fémmomok eltávolítása céljából különös gonddal kell tisztítani. A szokásos módon elmosogatott és zsírtalanított edényzetet 1 : 10-hez hígított salétromsavval mossuk. Az edényzet szárítása és tárolása portól védett helyen történjék, mert a levegő pora is számottevő ólmot tartalmazhat, ami a jelen eljárás alapján meghatározásra kerülő néhány mikrogrammnyi ólom meghatározásánál nem elhanyagolható tényező. A módszerben használt üvegtermék legyen lehetőleg jénai, Pyrex, vagy más ellenálló üvegfajtából, mert a lágy üvegekből állás közben ólom megy az oldatokba és megfordítva.

II. Szükséges anyagok

Desztillált víz, ólommentes. A továbbiakban egyszerűen vízzel jelzett desztillált vizet ellenálló üvegből készült, folyamatos üzemű (pl. Stadler-rendszerű) készülékkel nyerjük.

Kénsav, kb. 50%-os, ólommentes. A p. a. készítményt vízzel megfelelően hígítjuk és egy 500 ml-es választótölcsérbe öntve hozzáadunk 10 ml kloroformot és 1 ml karbamát-oldatot (lásd később). Egy perces erőteljes rázás után a kloroformos fázist leengedjük és elöntjük. Ezt a műveletet háromszor ismételjük, majd végül 10 ml tiszta kloroformmal is kirázzuk a savat. Az így megtisztított kénsav kimutatható ólmot már nem tartalmaz. (A tisztítatlan p. a. kénsav ml-enként 1–2 mikrogramm, esetleg több ólmot is tartalmazhat!)

Sósav, kb. 20%-os, ólommentes. A p. a. sósavból ólommenteset a szokásos módon: üvegről való desztillálással, vagy a kénsavnál előbb leírt módon nyerhetünk.

Perklórsav, 60%-os, p. a. készítmény. A p. a. készítmény, mivel eljárásunkban csak keveset használunk fel belőle általában tisztítás nélkül alkalmazható. Használatbavétel előtt azonban minden egyes tételt ellenőrizni kell: ólomtartalma ne haladja meg az 1 mg/kg Pb-értéket.

Ammóniumhidroxid-oldat, kb. 25%-os, ólommentes. A p. a. ammóniumhidroxidot a szokásos módon üvegről desztilláljuk át, vízben nyeletve el az ammóniát. Előnyös az acélbombában forgalomba hozott cseppfolyós ammónia használata.

Magnéziumnitrát-oldat, 20%-os, ólommentes. A p. a. készítményből ($Mg/NO_3/2 \cdot 6H_2O$) készített vizes oldatot ammóniumhidroxid-oldattal gyengén meglúgosítjuk (pH = 8–9, indi-

kátorpapírral ellenőrizzük), 500 ml-es választótölcsérben hozzáadunk 10 ml kloroformot és néhány csepp ammóniás ditizon-titráló-oldatot (lásd később). Erőteljes összerázás után a kloroformos fázist leengedjük és elöntjük. Ezt a műveletet mindaddig ismétljük, míg a kloroformos fázis színe tiszta zöld lesz. (A magnéziumnitrát-oldat a benne oldott szabad ditizontól megsárgul, de ez a körülmény a továbbiakban nem zavar.) A magnéziumnitrát-oldatot célszerűen a választótölcsérben tároljuk.

Dietilammónium-dietilditiokarbamát-oldat (a továbbiakban röviden: „karbamát-oldat”). *Lockwood* (14) szerint a következőképpen készítjük: 6 ml tiszta (lehetőleg frissen desztillált) dietilamint 14 ml széntetrakloridban oldunk és barna, üveg-dugós üvegbe öntjük. 2 ml széndiszulfidot 18 ml széntetrakloridban oldunk és ennek az oldatnak felét a dietilamin-oldathoz öntjük, a keveréket összerázzuk és vízcsap alatt lehűtjük. Ezután a keverékhez öntjük a széndiszulfid-oldat másik felét is. A kémszeroldat jégsezkrényben egy hétig tárolható.

Ditizon-oldat, 0,1%-os („ditizon-törzsoldat”). P. a. készítményből kloroformmal készítjük. Jégsezkrényben néhány hétig tárolható.

Ditizon-oldat, ammóniás („ditizon-titráló-oldat”) 10 ml ditizon-törzsoldatot 10 ml vízzel és 30 csepp ammóniumhidroxid-oldattal választótölcsérben összerázzunk. A rétegek szétválása után a kloroformos fázist leengedjük és elöntjük. A vizes fázist bürettába engedjük, vigyázva arra, hogy kloroform-cseppek lehetőleg ne kerüljenek bele. A ditizon-titráló-oldatot a felhasználás napján készítjük el és a felhasználásig fénytől óvjuk.

Kloroform. P. a. készítmény. Mivel ebből a kémszerből viszonylag nagy mennyiség fogy, regenerálása célszerű. Ezt *Biddle* (15) szerint úgy végezzük, hogy a szennyezett kloroformot tömény kénsavval (purum) mossuk mindaddig, míg gyakorlatilag szintelen lesz, majd kalciumhidroxiddal kezeljük és fölös kalciumhidroxidról teljesen üvegből készült készülékben ledesztilláljuk. Végül 1—1,5% etanolt adunk hozzá, mint stabilizátort. *Neumann* (12) szerint stabilizátorként 1—2 csepp anilint is használhatunk, amit viszont a desztillálás előtt kell hozzáadni.

Káliumjodid-oldat, 20%-os. P. a.-készítményből.

Nátriummetabiszulfit-oldat, 1,25%-os. P. a. készítményből naponta frissen készítjük.

Borkősav-oldat, 10%-os. A p. a. készítményt többszörös átkristályosítással ólommentesítjük.

Káliumcianid-oldat, 10%-os. P. a., „ólommentes”.

Ólom-törzsoldat. 1,60 g ólomnitrátot ($\text{Pb}/\text{NO}_3/2$, p. a.) 10 ml tömény p. a. salétromsavban oldunk és vízzel mérőombikban 1000 ml-re töltjük fel. Ez az oldat 1 ml-ben 1 mg Pb-t tartalmaz. Hosszú ideig eltartható. Ebből az oldatból hígítással frissen készítjük az 1 ml = 10 mikrogramm ólomtartalmú összehasonlító mérőoldatot.

Metilvörös-indikátoroldat, 0,1%-os, etanolban.

Brómtimolkék-indikátoroldat, 0,1%-os, 20%-os etanolban.

III. Hamvasztás

A vizsgálati anyag megfelelően egyenlősített mintájából, a várható ólomtartalomtól függően 1–10 g szárazanyagnak megfelelő mennyiséget 10 mg pontossággal, a kvarctégelyekbe mérünk. A szerves anyagot szabad gázlánggal óvatosan elszene-sítjük. A tégely kihülése után a maradékot 1–3 ml magnézium-nitrát-oldattal megnedvesítjük, majd szabad lánggal óvatosan beszárítjuk. Ezután a lefedett tégelyeket a hamvasztókemencében 500 C° -on 5 órán át izzítjuk. Ha ezután a keletkezett hamu még erősen szénrel szennyezett, a magnéziumnitrátos kezelést és az izzítást megismételjük. Előfordul, hogy ezt a műveletet harmadszor is meg kell ismételni. A fehér, gyengén sárga, vagy a nagy vastartalom mellett barna hamut 10 ml vízben és 5 ml sósavban rövid felfőzés segítségével oldjuk és a nyert oldatot kvantitatív szűrőpapíron szűrjük. A tégelyt és a szűrőpapírt kevés vízzel utánamossuk.

IV. Az ólom karbamátos kivonásánál használatos kémszer-oldat ólommentesítése

100 ml-es Erlenmeyer-lombikba 10 ml sósavat és 5 ml vizet mérünk, hozzáadunk 2 csepp metilvörös-indikátoroldatot, majd csepegtetőüveg segítségével annyi ammóniumhidroxid-oldatot, hogy éppen lúgossá váljék. Ezután az oldatot 1 csepp sósavval megsavanyítjuk és hozzáadunk még 5 ml sósavat. Az oldatot kb. 60 C° -ra melegítjük és hozzámérünk 2 ml káliumjodid-oldatot, majd a felszabadult jódot 1 ml nátriummetabiszulfid-oldattal redukáljuk. Az oldatot lehűtjük, választótölcsérbe töltjük és hozzáadunk 25 ml vizet, 10 ml kloroformot és 1 ml karbamát-oldatot, 30 mp-es erőteljes rázás után a kloroformos

fázist leengedjük és elöntjük. Ezután 2×2 ml kloroformot mérünk a választótölcsérbe, amit felrázás nélkül engedünk le, elöntve ezeket is. A karbamátos-kloroformos kirázást és a kloroformos átöblítéseket még egyszer megismételjük. Ezzel a művelettel a kémszer-oldatot — ha nem volt ólommal nagy mértékben szennyezve — megfelelően megtisztítottuk. Az első karbamátos kirázásnál tapasztalható sárga színt az oldatunkban levő réz-szennyezés okozza.

V. Az ólom kivonása a hamvasztási törzsoldatból

Az ólomtól mentes kémszeroldatot 100 ml-es Erlenmeyer-lombikba, vagy pohárba engedjük, felmelegítjük kb. $60\text{ }^{\circ}\text{C}$ -ra és hozzáöntjük a hamvasztási törzsoldatot, vagy annak aliquot részét, majd hozzámérünk 1 ml nátriummetabiszulfid-oldatot. Ezután az oldatot lehűtjük és visszatöltjük abba a választótölcsérbe, amelyben a kémszeroldat ólommentesítését végeztük. (A választótölcsér elmosására, ólommentesítésére közben nincs szükség.) Előfordul, hogy az ólommentesítésnél felhasznált kloroformból még néhány csepp kíséri oldatunkat és ez karbamát tartalmánál fogva a hamutörzsoldat ólomtartalmának egy részét kioldhatja. Ezért ügyeljünk arra, hogy ezek a kloroform-cseppek a választótölcsérbe visszakerüljenek (a poharat néhány csepp vízzel és kloroformmal mossuk át és ezt is öntsük a választótölcsérbe.) Ezután mérjük a választótölcsérbe 10 ml kloroformot, 1 ml karbamát-oldatot és 30 mp-es erőteljes rázás után a kloroformos fázist engedjük le egy kvarc-Kjeldahl-lombikba. A továbbiakban éppen úgy járunk el, mint a IV. alatt leírt ólommentesítésnél. A kloroformos átmosások és az újbóli karbamátos kirázás elvégzése után a kloroformos kivonatokat mind ugyanabba a Kjeldahl-lombikba gyűjtjük össze.

A káliumjodid és metabiszulfid szerepe az, hogy redukálja a jelenlévő ferriionokat. Az ammoniumhidroxid és a sósav mennyiségének lehető pontos betartása olyan pH-t biztosít, amely mellett az esetleg jelenlévő bizmut nem vonódik ki és így nem zavarja az ólom meghatározását.

VI. A karbamátos kivonatok elroncsolása

A Kjeldahl-lombikba gyűjtött kloroformos kivonatokhoz 2 ml kénsavat pipettázunk és szabad láng felett, vegyi fülkében, a lombikot megfelelő fogóba fogva és rázogatva, a kloroformot óvatosan elpárologtatjuk, majd a hevítést mindaddig folytatjuk, míg erős barnulást észlelünk. Ezután a lombikot lehűtjük,

belepipettázunk 1 ml perklórsavat és állandó rázogató mellett a roncsolást addig folytatjuk, míg az oldat színtelen lesz. Ezt a műveletet lassan, kis lángon végezzük el, kb. 5—10 perc alatt. (Használjunk védőszemüveget!) Az oldat kihűlése után 10 ml vizet és 5 ml sósavat adunk hozzá, a keveréket röviden felfőzzük majd ismét lehűtjük.

VII. Az ólom-ditizonát-szín kifejlesztése

A roncsolási törzsoldatot, vagy annak aliquot részét választótölcsérbe mérjük, hozzáadunk 2 ml nátriummetabiszulfid-oldatot, 4 ml borkősav-oldatot és 2 csepp bromtímolkék-indikátort. Csepegtetőüvegből addig adunk az oldathoz ammóniumhidroxid-oldatot, míg színe tiszta kék lesz. Az oldat kihűlése után hozzáadunk 1 ml káliumcianid-oldatot és annyi vizet, hogy az össztérfogat kb. 40 ml legyen. Ezután hozzápipettázunk pontosan 10 ml kloroformot és végül 2 ml ammóniumhidroxid-oldatot. Az így nyert oldathoz bürettából ditizonitrálóoldatot csepegtetünk, minden egyes néhány cseppnyi adag után erőteljesen összerázva a keveréket, mindaddig, míg a kloroformos fázisban a kék-színkomponens megjelenik, amit a vizes fázis sárgásbarna elszíneződése kísér. A kloroformos fázist ezután egy másik választótölcsérbe engedjük, amelybe előzőleg 47 ml vizet és 2,5 ml káliumcianid-oldatot mértünk. A keveréket 1 percen át erőteljesen rázzuk. A kloroformos fázis ekkor tiszta rózsaszínű lesz: benne oldatban van az ólom-ditizonát, a szabad ditizon a vizes fázisban marad. A rétegek szétválása után a kloroformos fázisból néhány cseppet kiengedünk, a választótölcsér kifolyócsövét hengeralakúra sodort szűrőpapírdarabkával szárazra töröljük és a kloroformos oldat zömét száraz szűrőpapíron át száraz kémcsőbe szűrjük.

A fentiek szerint nyert kloroformos ólom-ditizonát-oldat színintenzitását fotométerrel, vagy koloriméterrel mérjük, ill. komparációval értékeljük. Ezt a mérést lehetőleg hamarosan végezzük el, nehogy párolgás folytán az oldat koncentrációja megváltozzék; a mérésig az oldatot erős fény hatásától is óvjuk.

VIII. Kalibrációs görbe és vakpróba

A kalibrációs görbét és a rendszer vakpróbáját úgy állapítjuk meg, hogy 0—10—20 mikrogramm ólomnak megfelelő összehasonlító ólom-mérőoldatot pipettázunk kvarc-Kjeldahl-lombikokba, hozzájuk mérünk annyi magnéziumnitrát-oldatot, amennyit mintáink hamvasztásánál elhasználtunk, 10 ml vizet

és 5 ml sósavat, majd óvatosan elforraljuk a víz és sósav nagyobb részét. A maradékokhoz hozzámérünk 2—2 ml kén-savat és 1—1 ml perklórsavat és úgy járunk el, ahogyan a VI—VII. alatt leírtuk. Az így nyert ólomditizonát-oldatok mérésével készítjük el a kalibrációs görbét.

IX. Az ólom meghatározása

A kloroformos ólom-ditizonát-oldatok extinkcióját 1 cm-es küvettákban, tiszta kloroformmal szemben mérjük. Spektrofotométer használata esetén 520 millimikronnál mérünk, Pulfrich-fotométernél az S 52-es szűrőt használjuk. Az eredményekből minden esetben kivonjuk a vakpróba-oldat extinkcióját. A 20 mikrogrammot tartalmazó oldat extinkciója, Beckman spektrofotométerrel mérve 0,700 körüli érték, ami azt jelenti, hogy 10 g kiindulási anyag esetén, ha a hamvasztási törzsoldatot teljes egészében felhasználtuk, 0,2—4,0 mg/kg ólom kellő pontossággal meghatározható. A vakpróbából származó extinkció, ha kellő gonddal jártunk el az eljárás folyamán, nem haladhatja meg a 0,100—0,150-es értéket. Minden egyes meghatározási sorozatot vakpróba és legalább egy, célszerűen 20 mikrogrammos ismert ólomtartalmú oldat vizsgálata kísérjen. Vizuális összehasonlítás esetén legalább két összehasonlító oldatra van szükség, amelyek közül az egyik célszerűen az illető élelmiszernél megítélhető maximális ólom mennyiséget tartalmazza, a másik pedig kb. fele annyit.

Megjegyzések

Ha a vizsgálati anyagban kevés foszfát, vas és alkáliföldfém van (pl. cukorkafélék, gyümölcsíz), akkor a IV—VI. alatti részek elhagyhatók — egyébként az eljárás minden részlete pontosan betartandó. Bizmut jelenléte esetén is a teljes eljárást kell alkalmazni.

A zavaró anyagoktól mentesített roncsolási törzsoldat, amelyet a VI. alatt leírt módon kapunk, természetesen nemcsak a jelen módszerben leírt, ún. „monokolor”-ditizonos-fotometriás eljárással vizsgálható, hanem az ólom meghatározását a szabványos keverékszintitrálással (6, 7) vagy polarográfiás módszerrel is (8) elvégezhetjük.

Az eljárás továbbfejlesztése, ill. egyszerűsítése érdekében Osztályunkon folyamatban van a következő kérdések tanulmányozása:

a) *Tompsett* (16) javaslatára alapján a hamvasztási segédanyag (magnéziumnitrát-oldat) kiegészítése foszfáttal. Sok foszfát jelenléte esetén ugyanis *Neumann* (12) szerint a hamvasztás 7—800 C°-on is végezhető, ami sokkal gyorsabb munkát tenne lehetővé.

b) *Strafford és munkatársai* (17) szerint a dietilammónium-dietilditiokarbamátos kivonat a mintában jelenlevő összes három vegyértékű arzént is tartalmazza. Mivel eljárásunkban a karbamátos kivonást amúgyis redukálás előzi meg, lehetséges, hogy az ólom meghatározást egy munkamenetben arzén meghatározással tudjuk kiegészíteni.

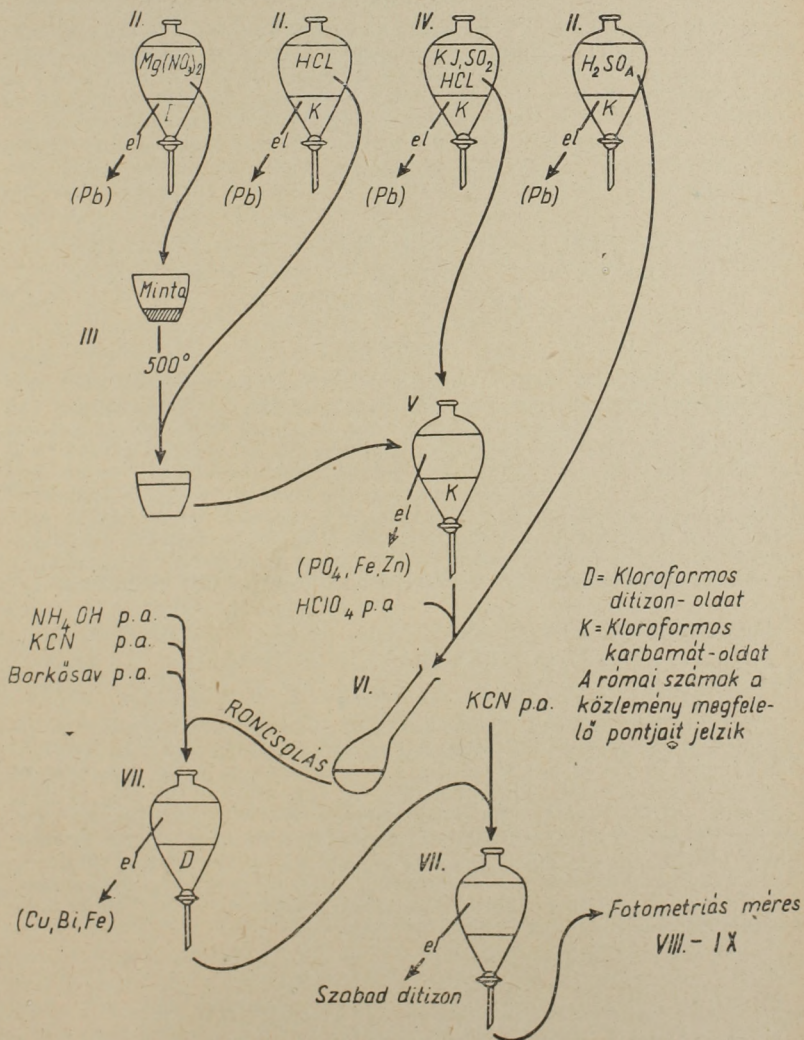
Ezekről a vizsgálatokról, valamint a hamvasztás helyett nedves roncsolással kapott eredményeinkről későbbi időpontban kívánunk beszámolni.

Végezetül kedves kötelességemnek tartom, hogy *Cielezky Vilmosnak* sok értékes tanácsáért és baráti segítségéért köszönetet mondjak.

IRODALOM

- (1) *id. Issekutz, B*: „Gyógyszertan és gyógyítás”, I. köt. 649. old., Művelt Nép, Budapest 1955.
- (2) *Moeschlin, S*: „Klinik und Therapie der Vergiftungen”, 21. old., G. Thieme, Stuttgart 1956.
- (3) *Jecklin, L*: Schweiz. med. Wschr. 685. 1955.
- (4) Extraits des travaux de la „Commission d'études des substances étrangères dans les Aliments”, Ann. Fals. Fraud. 1950. 210; idézve: *Cielezky V*: Élelmiszervizsg. Közl. I. 131. 1955.
- (5) *Foods Standards Committee*: Analyst 79. 588. 1954.
- (6) MNOSZ 3611 1952.
- (7) MNOSZ 3612 1952.
- (8) *Cielezky V. és Sz. Pintér Margit*: Élelmiszervizsg. Közl. I. 56. 1955.
- (9) „Official Methods of Analysis of the Association of Official Agricultural Chemists”, 8. kiadás, 424. old. Washington 1955.
- (10) GOSZT 5370—50 1950.
- (11) *Johnson, E. I., és Polhill, R. D. A*: Analyst 80. 364. 1955.
- (12) *Neumann, F*: Z. anal. Chem. 155. 340. 1957.
- (13) *Analytical Methods Committee*: Analyst 79. 397. 1954.
- (14) *Lockwood, H. C*: Analyst 79. 143. 1954.
- (15) *Biddle, D. A*: Ind. Eng. Chem.: Anal. Ed. 8. 99. 1936. idézve: *Welcher, F. J*: „Organic Analytical Reagents” 3. köt. 467. old. Van Nostrand, New York, 1948.
- (16) *Tompsett, S. L*: Analyst 81. 330. 1956.
- (17) *Strafford, N., Wyatt, P. F., és Kershaw, F. G*: Analyst 70. 232. 1945. idézve: *Welcher, id. mű.* 4. köt. 81. old.

Az ólom meghatározás vázlatja



ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЕСТЕСТВЕННОГО СОДЕРЖАНИЯ СВИНЦА И СВИНЦОВОГО ЗАГРЯЗНЕНИЯ В ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТАХ

Э. Шанди

Выработанный метод основан на методе описанном в «Аналитический Метод Комитет» (13). При помощи метода возможно определить содержание свинца в присутствии мешающих веществ, исходя из 1—10 г-ов сухих веществ. Основа метода: сухое озоление, выделение свинца из подкисленной среды при помощи дитиокарбамата, влажное разложение и определение свинца при помощи «моноклор» дитизона. Воспроизводимость результатов $\pm 30\%$, что достаточно ввиду трудностей и заграничной цели определения. Сообщаются результаты 20 разных исследований.

BESTIMMUNG DES NATÜRLICHEN BLEIGEHALTES UND DER VERUNREINIGUNG MIT BLEI VON LEBENSMITTELEN

E. Sándi

Die sich auf das vom „Analytical Methods Committee“ (13) empfohlene Verfahren gründende Methode ermöglicht die Bestimmung von Blei aus 1—10 g Trockensubstanz auch in Gegenwart von störenden Substanzen. Prinzip der Methode: trockene Veraschung, Extrahierung des Bleis aus saurem Medium mittels Dithiocarbamat, nasse Zerstörung des Extraktes und Bestimmung des Bleis mit einer „Monokolor“ Dithizonmethode. Reproduzierbarkeit der Ergebnisse ist 30%, was hinsichtlich der Schwierigkeiten und dem Ziele des Verfahrens als befriedigend betrachtet werden kann. In der Arbeit sind auch die Ergebnisse der Untersuchung von 20 verschiedenen Substanzen enthalten.

DETERMINATION OF NATURAL LEAD CONTENT AND LEAD CONTAMINATION IN FOOD

E. Sándi

The method evolved on the basis of the procedure recommended by the Analytical Methods Committee (13) lends itself to the determination of lead in 1—10 grams of dry substance, even in the presence of interfering substances. The principle of the method is dry ashing, extraction of lead from the acid extract with dithiocarbamate wet destruction of the liquid extract and determination of lead by a "monocolour" dithizone method. The reproducibility of the results ranges $\pm 30\%$, which is satisfactory considering the difficulties encountered and the scope of the method. Analytical values of 20 different substances examined are presented as well.

Sörök pasztörözött voltának kimutatása Carrez-féle derítéssel

KOTTÁSZ JÓZSEF

Budapest Főváros Vegyészeti és Élelmiszervizsgáló Intézete

Sörök pasztörözöttségének kémiai kimutatására igen alkalmas *A. Bau* klasszikus módszere (1).

Az eljárás az invertáz enzim működésén alapszik.

A sör felmelegítésekor — a pasztörözés hőmérsékletén — az invertáz elpusztul, vagy aktivitása igen erősen lecsökken, s a reá jellemző specifikus hatást (inverzió) többé nem képes kifejteni.

A. Bau eljárása szerint a sör egyik részét felforraljuk, másik részét változatlanul hagyjuk, majd mindkét részhez szaharóz oldatot adunk. A forralásra az invertáz inaktiválódik, s így a sör ezen részében az optikailag jobbraforgató szaharóz nem alakul invertcukorrá, míg a másik részben az invertáz a szaharózt invertálja, s így optikailag balraforgató invertcukor keletkezik.

A két elegyet derítjük és polarizáljuk. Ha a forgatóképességek között nagy különbség áll fenn, úgy a sör nem volt pasztörözve. A leolvasásnál a kísérleti határokon belül levő kis különbségeket nem veszünk figyelembe.

Az MSZ 8761 szerint a vizsgálatot a következőképpen végezzük (2): 20—20 ml sört pipettázunk két 50 ml-es mérőlombikba. Az egyik mérőlombik tartalmát felforraljuk, majd lehűtjük. Ezután mindkét mérőlombikba 20—20 ml 20%-os nádcukor oldatot töltünk, összerázzuk és 24 óráig szobahőmérsékleten állni hagyjuk.

A lombikok tartalmát 0,5—0,5 ml telített semleges ólomacetát oldat hozzáadásával derítjük, desztillált vízzel a jelig feltöltjük, jól összerázzuk, szűrjük és cukortartalmukat polari méterrel megállapítjuk.

Az ólomecetes derítés azonban, mely a kolloidok eltávolítására szolgál, nehézkes: az oldat gyakran nehezen szűrődik, s a szüredék nem tiszta. Különösen gyakoriak a nehézségek nagy extrakttartalmú barna söröknél (l. táblázat: „Extra maláta” és „Porter” sör), hol a malátából eredő festőanyagokat a képződő csapadék nem kielégítő mértékben adszorbeálja, s ezért a szüredék sötétbarna színű, ami a polariméteres leolvasást megzavarja.

A fenti derítő eljárás tökéletesíthető ugyan, ha a felhasznált ólomacetát oldat mennyiségét növeljük, és az ólomacet felesleget a szűrés előtt néhány ml hidegen telített káliumszulfát oldattal levesszük; még egyszerűbb és gyorsabb derítő eljárásnak találtuk azonban a Carrez-féle kémszer használatát.

A Carrez-féle kémszer két oldatból áll:

I. 60 g kristályos cinkszulfát 200 ml vízben.

II. 30 g kristályos káliumferrocianid 200 ml vízben.

Az oldatok elegyítésekor keletkező kocsonyás csapadék a kolloidokat jól adszorbeálja, gyorsan ülepszik, könnyen és tisztán szűrődik. A Carrez-féle derítést ajánlja *Sarudi* is (3) a keményítő polarimetriás meghatározásánál, hol a foszforwolframsavas derítésnél a fentiekhez hasonló nehézségek mutatkoznak.

Kísérleteinket az alábbiak szerint végeztük:

A fentiek szerint (2) előkészített oldatokhoz a 24 órai állás után 1—1 ml Carrez I és Carrez II oldatot adunk, desztillált vízzel jelig töltjük, összerázzuk és redős szűrőn szűrjük. A tisztán átsepegő szüredékek forgatóképességét a polarimeteren 200 mm-es csőben olvassuk le.

Összehasonlító vizsgálatokat végeztünk az ólomecetes és Carrez-féle derítéssel végzett eljárások között, melyeket az alábbi táblázatban foglaltunk össze:

		Forgatóképesség *			
		Ólomacetátos derítés		Carrez-f. derítés	
		Forralás nélkül	forralva	Forralás nélkül	forralva
Világos sör (Kőbányai Sör és Malátagyár)	I.	22,7	38,4	23,0	38,5
	II.	40,1	42,0	40,2	43,1
Special exportsör (Kőbányai Sör és Malátagyár)	I.	13,1	40,7	11,2	41,0
	II.	42,5	43,0	42,2	43,6
Extra maláta sör (Kőbányai Sör és Malátagyár)	I.	18,4	44,5	18,0	44,9
	II.	43,7	44,8	43,4	44,6
Porter sör (Kőbányai Sör és Malátagyár)	I.	14,0	46,7	20,0	46,4
	II.	44,9	46,9	42,9	46,8

* körfokokban, 200 ml-es csőben.

A fenti táblázat szerint az I. jelzésű sörök nyers sörök, a II. jelzésűek pasztörözöttek voltak.

IRODALOM

- (1) *Bau, A*: Woschenschr. Brauerei 19. 44. 1902. és Z. U L. 6. 189. 1903.
- (2) MSZ 8761.
- (3) *Sarudi I*: Élelmiszervizsgálati Közlemények, II. 120. 1956.

КАЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПАСТЕРИЗИРОВАНИЯ ПИВА ПРИ ПОМОЩИ ОСАЖДЕНИЯ ПО КАРЕЗ

И. Комас

Автор применяет растворы Карез-а на месте укусного свинца при осаждении по методе Бау для качественного определения пастеризования пива.

NACHWEIS DER PASTEURISATION VON BIER VERMITTELS CARREZ'SCHER KLÄRUNG

J. Kottász

Verfasser empfiehlt bei dem zum Nachweis der Pasteurisation dienenden Bau'schen Verfahren statt der Klärung mit Bleiacetat Carrez'sche Lösungen zu verwenden.

DETECTION OF PASTEURIZATION OF BEER BY THE CARREZ CLARIFYING SOLUTIONS

J. Kottász

The Bau method for the detection of pasteurization of beer was modified by the author in that Carrez solutions are applied at the clarifying procedure instead of the conventional lead acetate solution.

LA VÉRIFICATION DE LA PASTEURISATION DES BIÈRES, PAR LA CLARIFICATION SELON CARREZ

J. Kottász

Pour se vérifier de la pasteurisation des bières par la méthode de Bau, l'auteur préfère l'emploi des solutions Carrez.

A zsír propilgalláttartalmának meghatározása

TOMPOS ALBERT

Megyei Minőségvizsgáló Intézet, Kaposvár

A galluszsav sói és észterei a gallátok erősen redukáló hatásúak. Ezen tulajdonságuk teszik őket alkalmassá anti-oxidánsként való felhasználásra. A zsír avasodásának megelőzésére a propilgallátot kiterjedten használják.

Zsírolvasztó üzemekben ezen célból 1,5%-os ún. törzsoldatot készítenek és ebből 1 kg-ot kevernek 99 kg zsírba. A kész zsír tehát 0,015% propilgallátot tartalmaz. A propilgallátot szokták ettől eltérő mennyiségben is a zsírba keverni.

A propilgallát kis mennyisége forró zsírban oldódik. 1,5%-nyi mennyiséget azonban csak egészen forrón és gondos keverés közben képes feloldani. A hőfok csökkenésével, ami az üzemben elkerülhetetlen, az oldhatóság rohamosan esik és megindul a gallát kiválása: a tartály fenekén ülepszik le. Ennek következtében a törzsoldat felső rétegei 1,5%-nál kevesebb gallátot tartalmaznak és az ezzel készült zsír gallát tartalma kevesebb lesz 0,015%-nál. Viszont a törzsoldat alsó rétegeiben a gallát szuszpenzió alakjában felhalmozódik. Ezen esetben a kész zsír galláttartalma lényegesen nagyobb lesz 0,015%-nál: annak többszörösét is elérheti. Sőt olyan mennyiségben is kerülhet a zsírba, hogy azt erősen keserű ízűvé teszi. Ezen kellemetlenséget meg lehet előzni, ha a törzsoldatot 1,5% helyett 0,5% propilgallát tartalommal készítik. Ilyen esetben 80—90 C° esetében sem kell tartani a propilgallát kicsapódásától. Természetesen az ilyen 0,5%-os törzsoldatból háromszor annyit kell a zsírba adagolni, mint az 1,5%-osból.

A zsír propilgallát tartalmának ellenőrzése céljára szükséges volt olyan vizsgálati módszer, amellyel a mennyiségi meghatározást lehetőleg gyorsan el lehet végezni. Ezen módszer alapjául nagyon jól lehetett *Wenger* (1) azon megállapítását használni, mely szerint zsírt abs. alkoholban oldva és az oldathoz tömény ammoniát adva, antioxidáns jelenlétében rózsaszín keletkezik.

Wenger közleménye szerint 1 g zsírt kémcsőben 2 ml abs. alkoholban homogén oldat eléréséig melegíteni kell. Utána le kell hűteni, míg az oldat zavarossá válik, 0,5—1,0 ml tömény ammoniát adni hozzá és gyengén rázogatni. Gallátok jelenlétében intenzív rózsaszín keletkezik. Olajoknál alkohol hozzáadása nélkül vizsgálhatunk. A módszer annyira érzékeny, hogy vele 0,001% galláttartalom még kimutatható.

A *Wenger* megfigyelése szerinti rózsaszín azonban nem

állandó, rövid idő múlva sárgába megy át. Ezen sárga szín már állandó és ezért mennyiségi meghatározásra alkalmasabb a rózsaszínél.

Az itt leírt meghatározási módszer lényegében kolorimetrikus eljárás, amely azon alapszik, hogy ismert propilgallát-tartalmú zsírminták leírt módon előállított sárga színárnyalatát összehasonlítjuk ismeretlen mennyiségű propilgallátot tartalmazó zsírminta hasonló módon előállított színárnyalatával.

Ha a sárga oldatot még meg is szűrjük, a mennyiségi meghatározás nagy pontossággal végezhető. Ezen esetben az anyagokból kétszeres mennyiséget kell venni, hogy elegendő oldatunk legyen az összehasonlításhoz. Tehát 2 g zsírt, 4 ml abs. alkoholt és 1,5 ml tömény ammoniát. A szűrést száraz kisméretű szűrőpapíron kell végezni és az oldatot kb. 15 mm belső átmérőjű kémcsőben felfogni.

Az ismert propilgallát-tartalmú zsírmintákat a következő módon kell készíteni: kb. 150 ml-es főzőpohárba 100 g propilgallátmentes zsírt kell bemérni. Hozzáadjuk a propilgallát analitikai mérlegben lemért mennyiségét, majd dróthálón óvatosan melegítjük, figyelve, hogy a gallát teljesen feloldódjék a megolvadt zsírban és abban egyenletesen elkeveredjék. Ezután kihűlni hagyjuk és tároló edényben száraz, hűvös, sötét helyen tartjuk, ahol hosszú ideig változatlan marad. Az összehasonlító zsírminták készülhetnek 0,0075, 0,015, 0,030, 0,045, 0,075% propilgallát tartalommal, vagy tetszés szerinti más részletezéssel. Kis gyakorlattal elsajátítható, hogy a vizsgált zsírminta fenti módon előállított színárnyalata melyik két összehasonlító zsírminta színárnyalata közé esik.

IRODALOM

- (1) Wenger F: *Mitteil. Lebensmittelunt. u. Hyg.* 45. 587. 1954.

TELEGDY KOVÁTS LÁSZLÓ HOLLÓ JÁNOS:

Élelmezési iparok, I. kötet.

Tankönyvkiadó, Budapest, 1957.
767 oldal, 90 táblázat, 200 ábra)

A könyvpiacra legújabb napvilágot látott Telegdy Kováts László és Holló János szerkesztésében az „Élelmezési Iparok” I. kötete. Az „Élelmezési Iparok” a szerzők által ismertetett rendelkezés szerint egyetemi tankönyv, amely az egyetemi oktatásban hivatott hézagpótló szerepet betölteni. Az élelmiszerek előállításának technológiájával foglalkozó már korábban kibocsátott második kötet négy év óta nemcsak ennek a feladatnak felelt meg teljesen kielégítő módon, hanem a gyártási gyakorlatban is kiváló helyet szerzett magának.

Az I. kötet, mely a „Kémia, Nyersanyagismeret” alcímet viseli, még sokkal nagyobb mértékben tarthat számot arra, hogy az élelmiszerek előállításában, forgalmában, feldolgozásában érdekelték a mindennapi gyakorlatban állandó segédeszközként használhassák. Erre a szerepre alkalmassá teszi az a körülmény, hogy sokkal többet nyújt, mint amennyire az alcímből, mint rövid jellemzőből következtetve nyújtania kellene.

Az anyag ismertetési módja általában leíró jellegű, s egyetemi tankönyv szintjének megfelelően tárgyalási módja az alkalmazott tudományok elve szerint feltételezi, sőt megköveteli az alaptudo-

mányok egyetemi szintű ismeretét. Ettől talán csak a „Táplálkozástani ismeretek” című fejezetben tér el nagyon helyesen, mert az ebben nyújtott ismereteknek kiegészítő szerepük van, s bár ez a fejezet bővebb terjedelmet, s tárgya alapvető voltánál fogva részletesebb kifejtést is érdemelt volna, szinte észrevétlenül is nagy mértékben járul hozzá a mű teljes értékűségéhez.

A többi, címe szerint az „Élelmiszerkémiai ismeretek, az „Ismeretek az élelmiszerek fizikai kémiájának köréből”, az „Élelmiszerek feldolgozása és tárolása,” és az „Élelmiszeripari nyersanyagismeret” fejezet a vonatkozó tudományok mai állásának megfelelően teljesen kielégítő részletességgel tárgyalja a felvett anyagot.

Sajnálatosnak kell tekinteni, hogy az „Élelmiszeripari nyersanyagismeret” című fejezet elején nyomdatechnikai hiba következtében néhány oldalnyi szöveg kimaradt, valamint az is, hogy a papíros minősége silányabb, mint amilyent a mű anyagánál és tartalmánál fogva méltán megérdemelt volna. Ettől eltekintve azonban bizonyos, hogy nem csupán az egyetemi szakoktatásnak, hanem a hazai szakirodalomnak is nagy nyeresége a most megjelent kötet, amely a mezőgazdaságban, az élelmiszeriparokban, kereskedelemben egyaránt komoly és nagy feladatok és problémák megoldásában hivatott segítőtárs lenni. Örömmel üdvözljük megjelenését.

Lindner E. (Budapest)

Néhány újabb eljárás élelmiszerek nedvességtartalmának gyors meghatározására I. rész

BODJAZSINA — ZAREMBO :

Gyorsmódszer nedvesség meghatározására

(Maszlobojnoj zsirovaja promslenossz, 1955. 1. szám).

Fenti célra szerkesztett levélmérlegszerű mérleg nem súlynövekedést mér, hanem súlycsökkenést. A mérleg mutatója skála-beosztás előtt mozog. A skála 0,05 g beosztású, tehát a mutatónak egy skálarésszel történő elmozdulása — szárítás közben — 0,05 g súlycsökkenésnek felel meg. Az anyag teljes kiszáradását a mérleg mutatójának mozdulatlan-sága jelzi. A mérleg használata lehetővé teszi a nedvesség eltávolításának folyamatos megfigyelését, valamint kiküszöböli a szárítandó anyag bemérését. A szárítás infravörös lámpával történik. (127 V, 500 W). Az izzó minden irányban mozgatható. A vizsgálandó anyagból kb. 2,5 g-ot helyezünk el egyenletes rétegvastagságban a mérleg kb. 8 cm átmérőjű tányérkájára. A lámpát 15–17 cm-nyire állítjuk a szárítandó anyagtól. Ilyen körülmények között az anyag 2–8 perc alatt teljesen kiszárad, a teljes mérés elvégzése pedig legfeljebb 5–10 percet igényel. A műszert a szerzők különböző olajos magvakra, szappanra és margarinra próbálták ki. A mérési hiba a klasszikus módszerhez viszonyítva $\pm 0,5\%$.

LINCOLN — DIRKS — HARREL :

Módszer kenyér és tészta nedvességének gyors meghatározására.

(Cereal Chemistry, Minneapolis, 1954 nov.)

Szerzők a vékony réteggé sajtolt vizsgálandó anyag kiszáradását és

nedvességtartalmának meghatározását két infravörös lámpa és egy automatikus mérleg segítségével érik el. A cikkben részletezett körülmények között a súlyállandóság 3,5 perc alatt következik be. A mérés eredményét súlyok felrakása nélkül, 0,1 g-os pontossággal lehet leolvasni. Az eredmények jól megegyeznek a szokásos levegővel szellőztetett, vagy vákuum szárítószekrényben kapott adatokkal. A mérési hiba tésztaánál 0,45 %, kenyérnél 0,09 %. A tészta és kenyéren kívül más anyagok szárításával is végeztek kísérleteket és e műszer a mérésre sikeresen bevált.

MÖHLER — SLEVOGT :

Dielektromos állandó mérésén alapuló gyors nedvességmeghatározás húspan és húskészítményekben

(Fette und Seifen, 1954. jan.)

A módszer azon alapszik, hogy a vizsgálandó élelmiszerből „Eluol 167” elnevezésű anyaggal (dioxán és etilglikol keveréke) készített kivonat dielektromos állandóját mérjük. A keverék használatát az a körülmény teszi indokolttá, hogy tiszta dioxánnal a víz kivonása fehérje és zsirtartalmú anyagokból nem mindig folyik le zavartalanul. Ezt a bizonytalanságot az etilglikol adagolása kiküszöböli és ugyanakkor a dielektromos állandót csak lényegtelen mértékben növeli. A kivonást 25 g húsból 25 ml Eluolban végzik. Szűrés után az Eluol-víz keverék dielektromos állandóját a leírt készülékben megméri és előre elkészített hitelesítési görbe segítségével átszámítják víztartalomra. A vizsgálat pár perc alatt lezavonyolítható és eredményei jól egyeznek a klasszikus módszerekkel.

SIEGENTHALER :

Új eljárás vaj víztartalmának és tejszín, valamint egyéb tejtermékek zsirtartalmának gyors és pontos meghatározására

(La Technique Laitière, 1955. 11. szám.)

A meghatározás Bühler-féle készüléken történik. Ez a készülék lényegében szekrényben helyetfogó torziómérleg, amely lehetővé teszi, hogy az eredményt rögtön százalékban olvassuk le. A mérleg érzékenysége 5 mg. Jól használható az összes tejipari termék vizsgálatára, de elsősorban vajvizsgálatokra.

A vizsgálathoz 10 g vajat mérünk be elég nagy csészébe, mert így a vaj vékony rétegben szétterül, ami gyorsítja a száradást és megakadályozza a felfröcskölődést. 150 C°-on a súlyállandóság 4 perc alatt következik be. A mérleghez csatlakozó mutatón mindjárt leolvashatjuk a víztartalmat. A kísérleti adatok szerint a mérés pontossága nagyobb a szokásos Bunsen-égős kisütéses gyors módszernél.

OZIMOV — ALJAMOVSKIJ — RATNER :

Ömlesztett sajt nedvességtartalmának meghatározása kolorimetriás módszerrel

(Molocsnaja promüslennoszt 1954 1. szám.)

A módszer alapja az, hogy a vízmentes kobaltklorid és víz egyesülésekor a kobaltklorid színe a víz mennyiségétől függően megváltozik. A színváltozást „ONV-1” típusú fotoelektromos műszerrel mérjük.

A mérés lebonyolítására szűrőpapírt 15%-os kobaltkloridba itatunk. A megszáritott kobaltkloridos szűrőpapírt Petri csészébe helyezük és leöntjük a vizsgálandó ömlesztett sajttal. Az egészet a

készülék erre szolgáló tartójába helyezük és bekapcsoljuk a fényforrást. Ezáltal a két fényelemre különböző intenzitású fény esik, a kompenzációs rendszer egyensúlya megbomlik és a galvanométer tűje kiendül. Az elkészített skálán leolvassuk a kilengésnek megfelelő nedvességtartalmat.

A mérés 2–3 percig tart. Pontos ság tekintetében nem marad el a szabványos módszerek mögött.

Ha a galvanométer skáláján a százalékos nedvességtartalmat tüntetjük fel, akkor még gyorsabban lehet megállapítani az ömlesztett sajt nedvességtartalmát.

Révay Z. (Győr)

Országos Mezőgazdasági Minőségvizsgáló Intézet Évkönyve

(Mezőgazdasági Kiadó 1956. 442 o., 17 oldal tábla, 63. ábra).

Az év első felében jelent meg Takács Imre szerkesztésében az Országos Mezőgazdasági Minőségvizsgáló Intézet 1954–1955 évre vonatkozóan kiadott immár III. évkönyve. A 442 oldalt számláló terjedelmes évkönyv részletes beszámolót ad az igen nagy számban végzett rutinvizsgálatokról és nagyon helyesen, az intézet részben kutató jellegének kidomborítására — a mezőgazdasági minőségvizsgálat előbbre vitele érdekében elért eredményekről. Az évkönyv a benne napvilágot látott eredeti szakdolgozatok szempontjából irodalmi forrásnak tekinthető.

Lindner E. (Budapest)

D. C. UDY:

Fehérje meghatározása búzában és lisztben ion-kötés segítségével

Cer. Chem. 33, 190. 1956.

Búza fehérjék az orange G. festékkel 2,2 pH-nál reakcióba lépnek, oldhatatlan komplexet képezve. A fehérjék által lekötött festék

mennyisége, felhasználható a festék pontos meghatározására, ha mérhetjük a minta 1-g-ja által lekötött festéket. A gyakorlatban, a feleslegben alkalmazott festék le nem kötött mennyiségét mérjük kolorimetriásan.

A kísérleti eredmények azt bizonyították, hogy a különböző búza-féleségek fehérjeinek festék megkötő kapacitása közel állandó. Ez lehetővé teszi, hogy egy kísérletileg megszerkesztett görbéből, az adszorbeált festék mennyiségének megfelelően közvetlenül leolvassuk az összes fehérjék mennyiségét.

Lutler B. (Debrecen)

K. MORTGAREIDGE:

A fény hatása a vitaminban dúsított kenyerek vitamintartalmára

Cer. Chem. 33, 213, 1956. .

A szerző átlátszó, és félig átlátszó csomagolóanyagok szerepét vizsgálta, a vitaminban dúsított kenyerek vitamintartalmára vonatkozólag. Kísérleteiben a tiszta celofán, nyomással ellátott celofán, és parafinozott papíros csomagolóanyagokat hasonlította össze, a gyakorlatnak megfelelő tárolási körülmények között, 3 féle megvilágítási intenzitásban. A kísérleti eredmények szerint, függetlenül a csomagolóanyag minőségétől, nem lehetett mérhető mennyiségű thiamin, riboflavin és niacin veszteségeket kimutatni, az 5 napos tárolás periódus alatt.

Lutler B. (Debrecen)

F. SOLLARS:

Új módszer búzaliszt frakcionálására

Cer. Chem. 33, 111, 1956.

Ez idő szerint még mindig nem eléggé ismert, hogy a száraz sütemények (Cookies) minőségére, a búzalisztek mely komponense, mi-

lyen hatással bír. Szerző ezért három részre frakcionálta a búzalisztet: vízdoldható, híg ecetsavban oldható és oldhatatlan részre. Az oldhatatlan részben is két réteget választott el; az ún. első keményítőt és a maradékot. A savas elválasztás 2 pH-nál eredményesebb volt, de rekonstituált lisztekben kapott eredmények a legjobbnak akkor bizonyultak, ha a savas elválasztást 3, vagy kissé magasabb pH-nál végezték. Ezzel a módszerrel kapott eredmények használhatóbbnak bizonyultak, mint a csak mechanikailag szétválasztott és rekonstituált lisztekkel végzett kísérletek eredményei.

Lutler B. (Debrecen)

WALTER LINDBERG:

Zsírodható kátrányfestékek kimutatása és szétválasztása savkezeléssel való extrakcióval és különleges (impregnált) papírkromatografiával. Z. U. L. 103. 1. 1956.

Szerző a zsírodható kátrányfestékek kimutatására dolgozott ki módszert, melyet jól lehet alkalmazni az állandó élelmiszer vizsgálatoknál. A festéktartalmú zsírt, vagy olajat petroléterben oldva, a festékeket a petroléteres oldatból savoldatokkal vonja ki. Ezután a festékeket a savas fázisból éterrel extrahálva és az étert ledesztillálva, a maradékot elszappanosítja. Az el nem szappanosítható részt különválasztva, ecetsavas etilészterben oldja. A módszer érdekesebb része az, amikor az egyes festékeket praiffinum liquidummal impregnált kromatográf-papíron választja szét. Az elszáló oldat 80 térf. % metanol, mely 5% ecetsavat tartalmaz. Ezzel a módszerrel szerző szerint 9, az élelmiszerekben leggyakrabban használt zsírodható festéket lehet elkülöníteni, illetve azonosítani.

Lutler B. (Debrecen)

J. W. LAAKSO, M. FERRIGAN,
M. O. SCHULTZE, W. F.
GEDDES

**Egyszerű módszer búzának rág-
esálók vizeletével való fertőzött-
ségének kimutatására**

Cer. Chem. 33, 141, 1956.

A fertőzöttséget könnyen ki lehet
mutatni pufferolt ureáz-oldat al-
kalmazásával olyképpen, hogy a
vizsgálandó anyagot 6,8 pH-ra
beállított ureáz-oldatban tartjuk

5 percig, s utána az ureáz hatására
keletkezett ammóniát Nessler rea-
genssel mutatjuk ki. A keletke-
zett színváltozást érzékenyebben
lehet észlelni analitikai kvarclámpa
alatt, kék színszűrővel. A módszer
pontosságát több, ismert mennyi-
ségben fertőzött búzaszemeken mu-
tatták ki. A kísérletek egyebekben
azt is felderítették, hogy a felnőtt
patkányok naponta átlagosan
10 000 szemet fertőznek meg, ha
elégendő ivóvíz áll rendelkezé-
sükre. *Lutter B. (Debrecen)*

A Mezőgazdasági és Élelmiszeripari Tudományos Egyesület
(Budapest, VI., Gorkij fasor 44). Titkársága részére az 1958. évre az
alábbi külföldi és hazai szakfolyóiratok járnak :

American Miller and Processor
Analytical Abstracts
Annales des Falsifications et des
Fraudes
Antibiotiki (Szdornik perevodov)
Brot und Gebäck
Canning and Packing
Chemichy Prumysl
Chemische Technik
Der Bäcker und Konditor
Der Fleischermeister
Deutsche Lebensmittel Rundschau
Die Fleischwirtschaft
Die Mühle
Die Neue Verpackung
Die Zuckerrübe
Fette und Seifen
Food
Food Technology
Gazeta Cukrowicza
Gigiena i Szanitarija
Holodiljnaja tehnika
Industries Agricoles et
Alimentaires
Izvestija akademiji Nauk CCCP
Otdelenije himiceszkaja nauk
Journal of Agricultural and Food
Chemistry
Kältetechnik
Kolloidnűj zszurnal
Listy Cukrovarnicky
Maszlovoino-zsirovaja promüs-
lennoszty

Mechanical Handling
Mikrobiologia
Milchwissenschaft
Modern Packaging
Molocsnaja promüslennoszty
Mukomolino-elevatornaja
promüslennoszty
Poultry Industry
Promysl Potraviny
Przemysl Chemiczny
Pticevodstvo
Research
Revue Internationale de l'Indus-
trie Agricole
Seifen, Öle, Fette, Wasche
Szakarnaja promüslennoszty
Szpirovaja promüslennoszty
Tabak
Tobacco
Vinodelie i vinogradarsztvo
Zucker
Zszurnal analiticeszkoy himiji
Zszurnal Mikrobiologije, egidemi-
logiji i immunobiologiji
Agrárirodalmi Szemle
Agrárirodalmi Tájékoztató
Agrártudomány
Agrokémia és Talajtan
Alkalmazott Matematikai Int.
Közl.
Állattenyésztés

Borsodi Műszaki Szemle
Bulgáriai Hírek
Cukoripari Értesítő
Cukoripari Kutató Intézet
Közleményei
Csomagolástechnika
Elektrotechnika
Élelmezési Ipar
Élelmiszeripari Értesítő
Élelmiszervizsgálati Közlemények
Gép
Járművek és Mezőgazdasági
Gépek
Kertészet és Szőlészet
Kémiai Szemle
Közgazdasági Szemle
Magyar Állatorvosok Lapja
Magyar Energiagazd. és
Automata

Magyar Kémiai Folyóirat
Magyar Kémikusok Lapja
Magyar Mezőgazdaság
Magyar Tudomány
Műszaki Éélet
Műszaki Lapszemle
Nemzetközi Szemle
Növénytermelés
Növényvédelem
Pécsi Műszaki Szemle
Sertésenyésztési és Hízalási
Értesítő
Szabványügyi Közlöny
Társadalmi Szemle
Többtermelés
Új Csehszlovákia
Vegyipar
Vegyipari termelés
Villamosság

ÉLELMISZERVIZSGÁLATI KÖZLEMÉNYEK

GYAKORLATBÓL A GYAKORLATNAK...

Folyóiratunk a fenti cím alatt új rovattal bővül.

Ezen rovat ismertetni fogja az egyes élelmiszeriparágak szerint azon szempontokat, melyek az egyes cikkek vizsgálata alkalmával felmerültek, az új gyártmányokat, felhívja az ipar és kereskedelem figyelmét a hibákra, melyeknek kiküszöbölése elősegíti a minőségjavítás kérdését stb.

Előzetes észrevételeket fog tenni az idényszerű cikkek gyártásával, minőségével és rendszetével kapcsolatban is, hogy ezzel segítőtársává váljon olvasóinknak, kik a kutató jellegű tudományos cikkek mellett a minőségvizsgáló intézetek műszaki, analitikai és élelmiszerrendészeti tapasztalatait a gyakorlat és a fogyasztóközönség szempontjából hasznosítani tudják.

A szerkesztő bizottság

★

SÖR- ÉS UDÍTÓITAL IPAR

Sör

A fogyasztás nagymérvű emelkedése miatt a palackozott kommersz söröket (0,45-ös világos, 1,5-es „családi” és 0,45-ös barna) a budapesti gyárak sem pasztörözik, s így ezeket csak megfelelő hőmérsékleten (pl. hűtőszekrényben) történő tárolás esetén lehet a romlási veszély nélkül eltartani. Az elárusítóhelyekre (Italboltok, Közért üzletek) érkező tételeket tehát azonnal ki kell árusítani. Ezen áruk tartóssága az MSZ 8761 Sör-szabvány szerint ugyanis 8 nap, a pasztörözött sörök (pl. „Extra Maláta”, „Délibáb”, „Kinizsi”) 40 napos tartósságával szemben.

A palackozó üzemek figyelmét felhívjuk a kereskedelmi forgalomból visszakerülő („returpalackok”) gondosabb mosására. A fogyasztóközönség ugyanis a kiürült söröspalackot sokszor — igen helytelenül — más fogyasztási vagy egyéb cikkek (pl. tej, étolaj, benzin, petróleum) tárolására használja fel, s így a palack nehezen kimosható szennyeződéseket és kellemetlen idegen szagot (avas, dohos, ásványolajszag stb.) vehet fel. Köztudomású, hogy palackozó üzemeink előzattásra jelenleg még nincsenek berendezkedve, s így a szódás vízzel történő mosás esetleg nem elégséges a palackok tisztítására. Ugyancsak különös gondot kell fordítani a mosókefék minőségére, azok rendszeres ellenőrzésére és cserélésére. A keféből ugyanis szőr, fadarabok stb. kerülhetnek a palackba, s így annak tartalmát szennyezhetik. A tökéletlen mosásnak tudható be, hogy az utóbbi időben (főként a „családi sör”-nél) a lezárt palackokban lebegő szennye-

zéseket, üledéket és egyéb tisztatlanságokat találtunk. Ezen jelenségek részben a lámpázásnál mutatkozó gondatlanságra utalnak, részben azonban az előbb említett előáztatás hiányának tudhatók be. A palackok alján levő vájatba a sör, tej, vagy egyéb idegen anyag beszárad, az egyszerű szódás mosás és a kefe nem távolítja el, a lámpázásnál a vékony réteget nem lehet észrevenni, ugyanis az csak bizonyos idő eltelte után ázik fel, s a sört szennyezi, mint a fenti esetben a centrifugált szennyezések mikroszkópos vizsgálata azt igazolta is. Főként az 1,5-es „Családi” és a 0,35-ös Nektár söröknél tapasztalható ez a jelenség; így célszerű a raktáraknál és az elárusítóhelyeken történő átvételnél szűrőpróbaszerűen egyes palackok tisztaságáról lámpázással (átvilágítással) meggyőződni.

Az utóbbi időben nagy mennyiségben került a belföldi („városi”) fogyasztásra 12°-os és 18°-os világos pilseni típusú exportsör („St. Stephan”, „Pilsen Type”, „Duna Beer Type Pilsen”, „Rocky Cellar”, „Zsiráf” stb.) elnevezéssel. Ezen áru igen jól eltartható, minősége ellen kifogás nem merült fel.

Forgalomba került a legutóbbi időben 12°-os és 18°-os cseh importsör is „Pilsner Urquelle” és „Senator” elnevezéssel.

(K. J.)

Üdítőitalok

A nagy sörfogyasztás mellett egyre jobban emelkedik az alkoholmentes üdítőitalok fogyasztása is.

A palackozott árut (MSZ 20609) Budapesten a Fővárosi Ásvány- és Szikvízüzem (Bambi) és a Kőbányai Sör és Malátagyár gyártott. A Kőbányai Sörgyár üdítőital üzemét a legutóbbi időben átvette a Fővárosi Ásvány- és Szikvízüzem. A Margitszigeten levő üzem továbbra is az ún. kengyelzáras palackokat hozza forgalomba (narancsízű Bambi). A kőbányai telep új kiszerezésben hozza forgalomba készítményeit a „málnagyöngyét”, „meggyöngyét” és „citromízű gyöngyét”. Az új üvegek 250 ml-es fehér palackok, koronadugó lezárással. A palackok a régi 350 ml-es („Nektár sörös”) zöld, palackokkal szemben sokkal ízlésesebbek. Megjegyezzük azonban, hogy a „citromízű gyöngye” címkeje helytelen, mert megtévesztő. A címke ugyanis citrom gyümölcsöket ábrázol, holott ezen ital készítmény. A kereskedelemnek különösen ügyelni kell a romlási veszély miatt arra, hogy ezen italoknál a gyártási időt feltüntessék a címkén. A palackozott üdítőitalok szárazanyag (cukor) tartalma 13 ref. ‰ körül mozog.

A kereskedelmi forgalomban, főként a vendéglátóiparban igen jelentős szerepet játszanak a kimért üdítőitalok. Az egyes vállalatok nyersanyagnormái azonban lényegesen különböznek a fenti palackozott áruk nyersanyagnormáitól. Mert míg a palackozott áruk az alapanyagot képező szörp (mintegy 66 ref. ‰ szárazanyagtartalommal) ötszörös hígításával készülnek, addig a vendéglátóipar kb. tízszeres hígítást engedélyez. Ezen üdítőitalok szárazanyagtartalma 8 ref. ‰ körül van. Sokszor előfordul azonban, hogy a tökéletlen mérőeszközök, vagy szándékos hamisítás következtében a kimért áru szárazanyag (cukor) tartalma csak 5–6 ref. ‰, ami igen lényeges tápértékcsökkenést jelent.

Felmerült a kérdés, hogy a szénsavas üdítőitalt poralakban is forgalomba hozzanak. Ezen készítmény úgy készülne, hogy a por vízben való oldásakor a savtartalmat képező borkósavból (citromsavból) és szódabikarbonából képződjék a szénsav. Az italnak azonban feltétlen cukorral és nem egyéb édesítőszerrel (szaharin, dulcin) kell készülni. A megfelelő

zamatot és színt mesterséges anyagok (eszenciák, engedélyezett színezékanyagok) felhasználásával lehet elérni. Ezen készítmények csak megfelelő csomagolásban, a használati utasítás, a gyártási idő és az eltarthatóság határának feltüntetésével hozhatók forgalomba. (K. J.)

SZESZIPAR

Szeszesitalok

A palackozott árut (likőr, rum, pálinka) legnagyobb részben az Élelmészügyi Minisztérium Szeszipari Igazgatósága felügyelete alá tartozó gyárak (Unicin Likörgyár, Budapesti Szesz-, Élesztő- és Likörgyár, Angyalföldi Likőr- és Rumgyár és a Miskolci Likörgyár) készítik. Az utóbbi időben azonban számos egyéb vállalat is foglalkozik szeszital palackozással: részben a fenti gyártó üzemek készítményeinek, részben pedig az általuk szeszfőzdekből, vagy egyéb vállalatoktól felvásárolt gyümölcspálinkák felhasználásával, kiszerezésével (Országos Üdülőellátó Vállalat, SZÖVOSZ-hoz tartozó vállalatok stb.). Ezen vállalatoknál nagyobb gondal kell eljárni az áru minőségének (pl. alkoholtartalmának) és a csomagoló edényzetnek (palackok) ellenőrzésénél. Csak szabványos és ellenőrzött ürtartalmú palackokat szabad felhasználni. A forgalomból a töltőüzembe visszakerülő palackok között sok nem szabványos akad; tekintve, hogy a palackok töltése ún. töltési teljességre és nem automata adagolóval történik, az árutartalomban csökkenés mutatkozhat, ami a palack ürtartalomhiányának tudható be (pl. 0,2 l-es palack csak 167 ml rumot tartalmazott).

Különösen fontosnak tartanánk, ha a vidéki szeszfőzdek a gyümölcspálinkák alkoholtartalmának beállítására nagyobb gondot fordítanának. A vidéki italmérezéskbe ugyanis gyakran kerül olyan áru, melyet nem a Szeszforgalmi Vállalattól, hanem közvetlenül valamely szeszfőzdetől vásároltak. A főzde az árut hektoliterfokra adja el és nem literre. Így változó alkoholtartalmú pálinkák kerülnek kimérésre (42,0—52,0 tf. ‰), 50 tf. ‰-os áruként, mert ezen italokra megállapított árak 50 tf. ‰-os alkoholtartalmú árukra vonatkoznak. A fogyasztóközönségnek azonban nem közömbös, hogy 50 tf. ‰-os áru helyett csak pl. 45 tf. ‰-osat kap, s így a szeszfőzdek pontatlansága a fogyasztóközönség megkárosítását, visszaéléseket és az ellenőrzés megnehezítését eredményezi. (K. J.)

Ecet

Az erjedés útján előállított étkeletben (MSZ 1659 „Ételetet”) mutatkozó hiány megszüntetésére, átmeneti időre az erjedéscsészecet meghatározott arány szerint tömény ecetsavból hígított ecettel keverik. Ezen szabványon kívüli árun az MSZ 1659 „Ételetet” szabvány megjelölést alkalmazni nem szabad.

Az Ecetipari Vállalat Üllői út 60. sz. alatt levő palackozó üzemét leállította, s a palackozást a Ceglédi úti telepén végzi. A palackozott áru iránt mutatkozó nagy kereslet miatt az új üzem jelenleg még kis kapacitására való tekintettel az igényeket kielégíteni nem tudja. Ezért forgalomba hoz palackozva 20‰-os (20 g/100 ml) töménységű ecetet is, s ezzel jelentős mértékben csökkenti a palackozott árukban mutatkozó hiányt. Ezen áru címkéjén azonban **feltűnően jelezni kell** a megszokottnál (szabványos, 10‰-os) nagyobb ecetsavtartalmat. (K. J.)

ÉDESIPAR

Fagylalt

A nyári évadnak megfelelően a fogyasztóközönség igényeinek kielégítésére nagymértékben fellendült a fagylaltgyártás. A fagylaltok minőségét szabványok szabályozzák, pontosan megjelölve a minimális követelményeket. A forgalomba hozott fagylaltok előállítására igen sok esetben a szabványok figyelembevétele nélkül történt. Különösen áll ez a tejfagylaltokra, amelyek egyes fajtáinál olyan eltérések mutatkoztak, mintha a készítők nem is lettek volna tudatában annak, hogy tejfagylaltfőzeléket készítenek. Meglepő, hogy a vaníliafagylaltok általában sokkal ritkábban tértek el összetétel tekintetében az előírástól, mint pl. karamell-, csokoládé- vagy puncsfagylaltok. Még ennél is gyakoribb volt a kifogásolhatóság a tejszínes fagylaltoknál, amelyek a legtöbb esetben teljesen silány termékek voltak. A gyümölcsfagylaltok ezzel szemben csaknem mindig előírászerű összetételben kerültek a fogyasztók elé, itt azonban más baj mutatkozott. A szabvány ugyanis előírja, milyen anyagokat tartalmazhat a gyümölcsfagylalt, s egyben kimondja, hogy az előírtakon kívül más anyagot a készítéshez felhasználni nem szabad. Egyes fagylaltelőállítók ízjavítás céljából tejszínt is adagoltak hozzá, amit a viszontelárúsítóknak kiadott szállítólevélen is jeleztek. Ennek az lett a következménye, hogy a viszonteladó a fagylaltot tejszínesnek jelezte, ami azonban a vonatkozó szabvány szerint egészen más fogalmat ad. A készítmény természetesen kifogás alá esett, ha mint tejszínfagylalt került a közönség elé.

(L. E.)

Szaloncukor

Időszerű felhívni a figyelmet a szaloncukor helyes tárolására. A gyártás rendszerint a nyár második felében meg szokott indulni, a legyártott tételek pedig a gyári férőhelyhiány miatt a teljes stabilizálódás beállta előtt kerülnek szükségképpen a kereskedelmi raktárakba. Itt különösen a csapadékdús nyári időjárás jelent komoly veszélyt, ha nem történik kellő gondossággal a tárolás. A tárolási előírásokat minden tárolóhelyen ismerni kell és azokat a leggondosabban kell betartani, ha a két év előtti súlyos károsodások megismétlődését el akarjuk kerülni.

(L. E.)

Kávé

Az elmúlt időszakban panaszok merültek fel a pörkölt szemeskávé minőségével szemben. A kifogásolt pörkölt kávék kellemetlen szúrós, avas szagúak voltak, főzetük pedig élvezhetetlen volt. A hiba oka, hogy a kereskedelemben gyakran nem fordítanak kellő gondot a kávé tárolására, szavatossági idejét figyelmen kívül hagyják, hefekig hagyják a pörkölt kávékat a kirakatban, ahol sokszor órákon keresztül éri a napfény.

A nyerskávé jelentős mennyiségű zsiradékot tartalmaz. Ez a zsiradék a pörkölés alatt nem bomlik el. Egy része azonban a pörkölt kávészemek felületére húzódik, azt bevonja, fényessé teszi. A kávészemek felületére húzódott zsiradék bővebben érintkezik levegővel, könnyen oxidálódik, avasodik. A meleg, a napfény az avasodási folyamatot gyorsítja. Az

ilyen kávé kellemetlen szagú lesz, s főzete élvezhetetlen. A fentebb említett hibák oka is az volt, hogy a kávék zsiradékartalma megavasodott. A június végén és július első két hetében a szokatlan meleg időjárás is gyorsította a kávék avasodását. Az ilyen kávén segíteni már nem lehet. Utánpörköléssel, vagy más módon minőségét feljavítani nem tudjuk.

Elsősorban arra kell tehát ügyelnünk, hogy a pörkölt kávékat szavatossági idejükön belül hozzuk forgalomba. A friss pörkölésű kávé zamata jobb. A hosszú állás rontja a kávéital minőségét. Jelenleg a kereskedelmi adottságok figyelembevételével hat hétben állapították meg a pörkölt kávé szavatossági idejét. A csomagoláson fel kell tüntetni a kiszállítás napját. Ettől az időponttól számít a hat hét.

Nagy melegben lehetőleg csak annyi kávé tálaljunk, amennyit két hét alatt előreláthatóan eladhatunk. Ügyeljünk arra, hogy a kirakatba kitett kávé napfény ne érje.

A raktárban a kávé lehetőleg légmentesen zárható csomagolásban (bádogdobozban) tartsuk. A pörköltkávé nedvszívó tulajdonságú. Érzékeny a környező levegő páratartalmával szemben. Páradús levegőben vizet szív magába, amikor is súlya 4—5 százalékkal is megnőhet. Az ilyen kávé szivacsos állagúvá válik és nehezen darálható meg. A hibán segítnék, ha a kávé megszáritjuk.

(R. L.)

Kakaópor

Az elmúlt hónapokban különböző színű kakaóporok kerültek forgalomba, sőt főzetüknek íze sem volt azonos. Ennek oka az volt, hogy különböző országokból (Hollandia, Franciaország, Izrael) érkezett import kakaópor és hazai gyártású áru került egyidejűleg forgalomba. A fogyasztók széles körében elterjedt az a felfogás, hogy a sötét színű kakaópor jobb minőségű. Ez a felfogás nem mindenben helytálló, mert a sötét szín nem jelenti azt, hogy a kakaópor íze is kifogástalan. Kétségtelen, hogy a holland kakaóport sötét színe is jellemzi. Régebben, amikor a hazai kakaóporgyártásunk még jelentéktelen volt, a szükségletet túlnyomórészt holland import kakaóval fedeztük. A fogyasztók ekkor megszokták a sötét színű árut, s sokan még ma is ragaszkodnak hozzá.

A jó kakaópor jellemzői a jellegzetes barna színe, száraz, könnyen ömleszthető, finom porszerű állománya, kellemes zamata. Italkészítésnél jó lebegőképessége is fontos. A kakaópor minősége elsősorban a felhasznált nyersanyag, a kakaóbab minőségétől függ. Ismerünk illatos, sötét színű, kellemes zamátú, fanyar ízű, savanykás, világos színű stb. kakaóbab fajtákat. Ezekből természetesen azonos gyártási műveletek mellett sem nyerhető azonos minőségű kakaópor. Annak ellenére, hogy a kakaópor íze és színe döntően a felhasznált nyersanyagtól függ, megfelelő technológiai műveletekkel a kakaópor érzékszervi tulajdonságait mégis befolyásolni tudjuk. Így pl. világosabb kakaóbab színét sötétíthetjük, ha erősebben pörkölünk, sötétebb lesz a kakaópor akkor is, ha őrlés után gyorsan lehűtjük, illetve felmelegítés és lehűlés többszöri megismétlésével hőkezeljük (temperáljuk) stb. Az izzaltással és ízesítőanyagok adagolásával javíthatjuk. A feltárás alkalmával lúgos anyagokkal kezelik a kakaóbabot. Az ilyen kakaóbabból készült kakaópor íze kevésbé savanykás, fanyar, s lebegőképessége is javul. Lebegőképességnek nevezzük a kakaópornak azt a tulajdonságát, hogy ital készítésénél az oldhatatlan részek lassabban, vagy gyorsabban leülepsznek. Minél finomabbra porították

az árut, annál jobb a lebegőképessége, más szóval a belőle készült italban annál később képződik üledék.

A hazai gyártású kakaóporok sokszor fanyar, savanykás ízűek. Ezen érzékszervi jellemzők az ún. Bahia kakaóbab természetes kísérői. Az ilyen kakaópor tehát nem hamisított; teszták ízesítéséhez (kakaós piskóta, kakaós püspökkenyér, kakaós kuglóf, kakaós habcsók stb.) alkalmas. Ha italkészítéskor a fanyar íz zavarólag hat, úgy a kakaóitalt több cukorral kell elkészíteni. A szokásos literenkénti 4—5 dkg cukor helyett 6—7 dkg-ot kell felhasználni.

Fel kell hívnunk még a figyelmet a tárolásra is. Az elmúlt években zsírszegényebb, ún. II. osztályú kakaópor került csak forgalomba. Jelenleg jobb minőségű kakaóporok vannak forgalomban, melyeknek zsírtartalma meghaladja a 22,0 százalékot. A zsírdúsabb kakaópor azonban állás közben könnyebben csomósodik, a melegben gyorsabban szürkül ki. Mindkettőt a nagyobb kakaóvajtartalom idézi elő. Sok kakaós zacskót ne tegyünk egymásra, nehezéket, göngyöleget kakaóra ne tegyünk, mert a préselés még fokozza a csomósodást. Kirakatba, napfény hatására kakaóport ne tegyünk ki. A hűvös raktártér kiválasztásánál viszont arra ügyeljünk, hogy a helyiség száraz legyen. Nedves raktárban ugyanis rövid idő alatt dohszagúvá válik a kakaópor.

(R. L.)

Csokoládé áruk

A júliusi szokatlan meleg hetek a csokoládés áruk eltarthatóságát is károsan befolyásolták. A nagy melegben a csokoládés darabáruk talpa behűződött, az ezzel kapcsolatos térfogatváltozás az addig légmentes zárást megszüntette, s levegőjáratok keletkeztek, melyeken keresztül a darabáru magva (korpusza) rövid idő alatt kiszáradt. A készítmény élvezeti értéke jelentősen csökkent, sőt több esetben fogyasztásra alkalmatlanná vált. Pralinenál, Melba-kockánál, Jamaika-szeletnél stb. jelentkeztek az említett hibák. Ne tároljunk tehát huzamosabb ideig nyáron csokoládés árut. A kirakatba se tegyünk, s ha ez mégis elkerülhetetlen, akkor két-három napnál tovább ne tartsuk a kirakatban. A melegnek, napfénynek kitett áru már egy hét után káros íz- és állagváltozáson mehet keresztül. Gyorsítja a nyári meleg az avasodást is. A tapasztalatok azt mutatták, hogy nyáron a tejsokoládék, de különösen a magfészesekkel dúsított tejsokoládék (diós, földimogyorós stb.) három, négy hét után már ízelváltozást szenvednek, ezért ismételten felhívjuk a figyelmet a csokoládés áruk nyári melegben történő fokozott gondosságu tárolására és gyors forgalombahozatalára.

(R. L.)

A minőségvizsgáló intézetek hírei:

BUDAPEST.

1957. máj. 8, 22. és 29. A Konzervipari Tárcaközi Bizottság ülése a Fővárosi Vegyészeti Intézetben.
1957. jún. 4—5. Állomásvezetői értekezlet a Fővárosi Vegyészeti Intézetben, Rajky Antal elnökletével.
1957. jún. 5. Jaschik Sándor előadása a papiroskromatográfiáról és Jáky Miklós előadása a zsírok papiroskromatográfiájáról a Fővárosi Vegyészeti Intézetben.
1957. jún. 22. Kottász József „A méz összetétele” c. előadása a Fővárosi Vegyészeti Intézet Műszaki Továbbképző Előadássorozata (MTE) keretében.
1957. júl. 19. Ecet szakértőbizottsági ülés a Fővárosi Vegyészeti Intézetben az Élelmezésügyi Minisztérium Szeszipari Igazgatósága, a Belkereskedelmi Minisztérium, a Magyar Szabványügyi Hivatal, az Országos Élelmezés- és Táplálkozástudományi Intézet, a Kereskedelmi Minőségellenőrző Intézet, az Ecetipari Vállalat és a Fővárosi Vegyészeti Intézet képviselői részvételével.

A SZERKESZTŐ BIZOTTSÁGHOZ A KÖVETKEZŐ DOLGOZATOK ÉRKEZTEK:

Dénes Anna és Cielešky Vilmos: Parathiontartalmú növényvédőszer szennyezések (permetmaradékok) meghatározása.

Varga István: A keményítőtartalom meghatározásának szükségessége hamisított paprikában.

Lásztity Radomir: Néhány adat és megjegyzés a neolaborográf lisztminősítő készülékkel kapcsolatban.

Szeredy Ida: A kollagén és elasztintartalom egymás melletti meghatározása és mennyisége különböző vágó állatok húzában.

Fehér László, Major József és Szabó Imre: Pektinbontás vizsgálata penészekből előállított enzimmészítményekkel és azok keverékeivel.

Kaffehr Béla és K. Sárossy Gabriella: Húsok és húskészítmények érési és romlási folyamatainak vizsgálata.