

Glükóztartalom enzimes meghatározása kísérleti mintákban

Temesvári János és Hoschke Ágoston

Központi Élelmiszeripari Kutató Intézet, Budapest

Érkezett: 1996. január 12.

A glükóztartalom meghatározására rendkívül sok módszer áll rendelkezésünkre, több könyv terjedelmű tanulmány foglalkozik vele, ezek felsorolására és méltatására ebben a cikkben most nem lenne célszerű kitérni (Browne, Zerban, 1948; Somogyi, 1945; Dubois és munkatársai, 1956; Bergmeyer, 1974).

A legújabb kutatások a rögzített enzimek, glükóz-elektrodok előállításának irányába indultak el, amelyek a hagyományos titrimetriás módszereket minden területen kezdik kiszorítani. Az utóbbi években óriási fejlődésnek indult az áramlásos rendszerű, enzimekkel katalizált reakciók, automatikus elemzők, bioszenzorok alkalmazása (Őrsi, 1981; Szabó, Morvay, 1984; Scheller, Schubert, 1992).

Enzimológiai kutatási feladataink: a fermentációs és más kísérletek, valamint a lebomló keményítőfólia vizsgálatok középpontjában a glükóz-tartalom meghatározása állt. A kísérleti minták glükóztartalmának mérésére a céljainknak legjobban megfelelő módszert kerestük. Feltételeink között szerepelt, hogy a módszer specifikus legyen, a meghatározás menetében ne legyenek zavaró körülmények, ismeretlen komponensek, valamint kis anyagfelhasználással és elérhető költséggel legyen megvalósítható. A napi minták száma nem haladta meg a 100 mérést, ezért nem volt szükség automatikus, rögzített enzimes módszert bevezetni (Polacsek, Rácz, 1983; Őrsi, 1981).

Irodalmi leírások alapján a glükózoxidázos enzimes módszert találtuk kis változtatással a legalkalmasabbnak (Huggett, Nixon, 1957; Bergmeyer, Bernt, 1974). A részletesen ismertetett módszert számos kutatási területen alkalmaztuk, így többek között a glükoamiláz előállításának fejlesztésében, enzimmészítmények összehasonlító vizsgálatában, glükoamiláz- és transzglükózidáz-aktivitás meghatározásában, valamint kísérleti keményítőfóliák enzimes lebontásában. A kutatási tervek céljainak megfelelő, a helyi adottságokat kielégítő módszert dolgoztunk ki.

Anyagok és módszerek

A glükóztartalom meghatározás anyagai

Glükózoxidáz. Sigma (St. Louis, USA) gyártmány, II. típus. *Aspergillus niger* eredetű. A gyártó cég által formulázott, stabilizált termék. Kataláz aktivitása elhanyagolható 0,005 % érték alatt van. Fehérjetartalma 20 %-os. Glükózoxidáz aktivitása 18000 U/g. Más készítményeket is felhasználtuk a mérésekhez, ha a kísérő enzimaktivitások nem érik el a 2 %-ot. A kísérő, szennyező enzimek általában amilázok, invertáz, galaktozidáz és maltáz. Az ismeretlen eredetű glükózoxidáz készítményeket a felhasználás előtt meg kell tisztítani a szennyező enzimektől, ellenőrizni kell a fehérjetartalmat és a glükózoxidáz aktivitást.

Peroxidáz. Sigma (St. Louis, USA), II. típus, torma eredetű. RZ száma: 1,5 (A_{403}/A_{275}), peroxidáz aktivitása 200 U/mg.

O-Dianizidin-dihidroklorid (Sigma, St. Louis, USA). A Sigma készítmény üvegenként 50 mg-ot tartalmaz, vízben oldódik és glükóz mérésére szolgál. Más gyártmányú o-dianizidin is felhasználható, de vízben való oldódását ellenőrizni kell.

Glükóz. D(+)-glükóz, vízmentes, Merck gyártmány (Darmstadt, Németország).

Keményítő. Amiláz-aktivitás mérésére szolgáló Merck keményítő ((Darmstadt, Németország).

Glükóz teszt. Boehringer gyártmány (Mannheim, Németország).

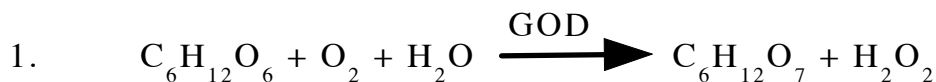
Foszfát pufferoldat, 0,5 mól dm^{-3} , pH: 7,0. A puffert dinátrium-hidrogén-foszfát és nátrium-dihidrogén-foszfát felhasználásával készítettük. A pH-értéket minden esetben ellenőriztük. A vegyszerek minősége analitikailag tiszta (at.), Reanal gyártmány (Budapest).

α -Metilglükozid, Serva gyártmány (Heidelberg, Németország). Képlete: $\text{C}_7\text{H}_{14}\text{O}$, 1-O-Metil- α -D-glükopiranozid, olvadáspontja: 165-167 °C, molekulatömege: 194,2.

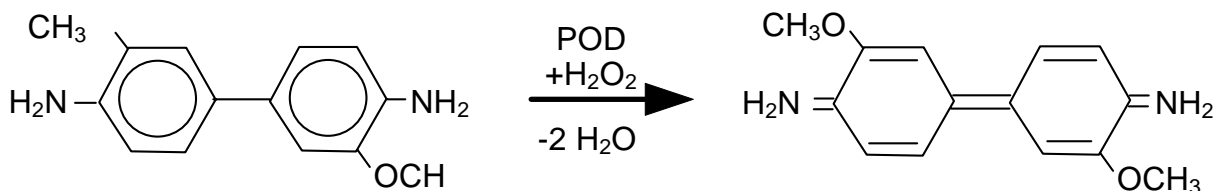
A glükóz-mérés kivitelezése

A glükóz-meghatározás enzimes módszerének lényege jelen esetben, hogy a glükózt a glükózoxidáz segítségével glükonsavvá oxidáljuk hidrogén-peroxid keletkezése közben. Peroxidáz és o-dianizidin jelenlétében a hidrogén-peroxid a hidrogén donorból azoszinezéket képez, amelynek színintenzitását mérjük 420 nm hullámhosszon. (Bergmeyer, Bernt, 1974; Huggett, Nixon, 1957).

A reakciólépések a következők:



2.



Az oldatok összetétele

1. Reagens oldat. Az oldatot 100 cm³-es csiszolt dugós mérőlombikban készítettük.

- 30 mg glükózoxidázt, amely 500 U aktivitású, kb. 80 cm³ foszfát pufferben (0,5 mól.dm⁻³, pH: 7,0) oldottuk,
- 2 mg peroxidázt adtunk hozzá, amely 400 U enzim-aktivitású,
- 5 mg o-dianizidin-dihidro-kloridot adtunk hozzá.

A Sigma kiszerezésben 1 üvegcsé 50 mg ODN-t (o-dianizidin-hidroklorid) tartalmazott. Az üvegcsében 5 cm³ deszt. vízben feloldottuk az ODN-t és ebből 0,5 cm³ mennyiséget, azaz 5 mg ODN-t adtunk a reagens oldathoz.

Ezután a mérőlombikot a foszfát pufferrel feltöltöttük 100 cm³-re. A reagens oldatnak nem szabad elszíneződni, az elszíneződés glükóz szennyezettséget jelez. A tiszta átlátszó oldatot a felhasználásig - lehetőleg csak rövid ideig - sötét helyen tároltuk. A 100 cm³ mennyiség kb. 39 glükózminta mérésére volt elegendő. A reagens tárolhatósága legfeljebb 8 óra (1. táblázat).

1. táblázat: A GOD/POD/ODN reagens összetétele

Reagens	Enzimaktivitás [U/mg]	Reagensek tömege [mg]	Összes enzimaktivitás [U]
Glükózoxidáz, GOD	18	30	540
Peroxidáz, POD	200	2	400
o-Dianizidin-dihidro-klorid (ODN)	-	5	-
A reagenseket foszfát pufferben (0,5 mól.dm ⁻³ , pH: 7,0) oldva, 100 cm ³ -re feltöltve kell használni.			

2. Minta oldat. A minta oldat térfogata minden esetben 0,5 cm³. A glükóz koncentráció az oldatban 10-30 µg/0,5 cm³. A koncentrációtartományt hígítási sorozattal, próbamérésekkel lehetett meghatározni.

3. Standard oldat. A mérés pontossága céljából időnként standard sorozatmérésre volt szükség. Az analitikailag legtisztább glükózt szárítószekrényben súlyállandóságig szárítottuk. A szárított glükózból 1 g.dm^{-3} koncentrációjú oldatot készítettünk és ebből a kalibrációs görbe méréseihez 5-40 μl mennyiségben sorozatot készítettünk, majd a térfogatot deszt. vízzel $0,5 \text{ cm}^3$ -re kiegészítettük. A mérés menetét a 2. táblázatban foglaltuk össze.

2. táblázat: A mérés menete

Oldat	Mérendő minta	Vak minta
Deszt. víz	-	$0,5 \text{ cm}^3$
Minta vagy standard	$0,5 \text{ cm}^3$	-
Reagens	$2,5 \text{ cm}^3$	$2,5 \text{ cm}^3$

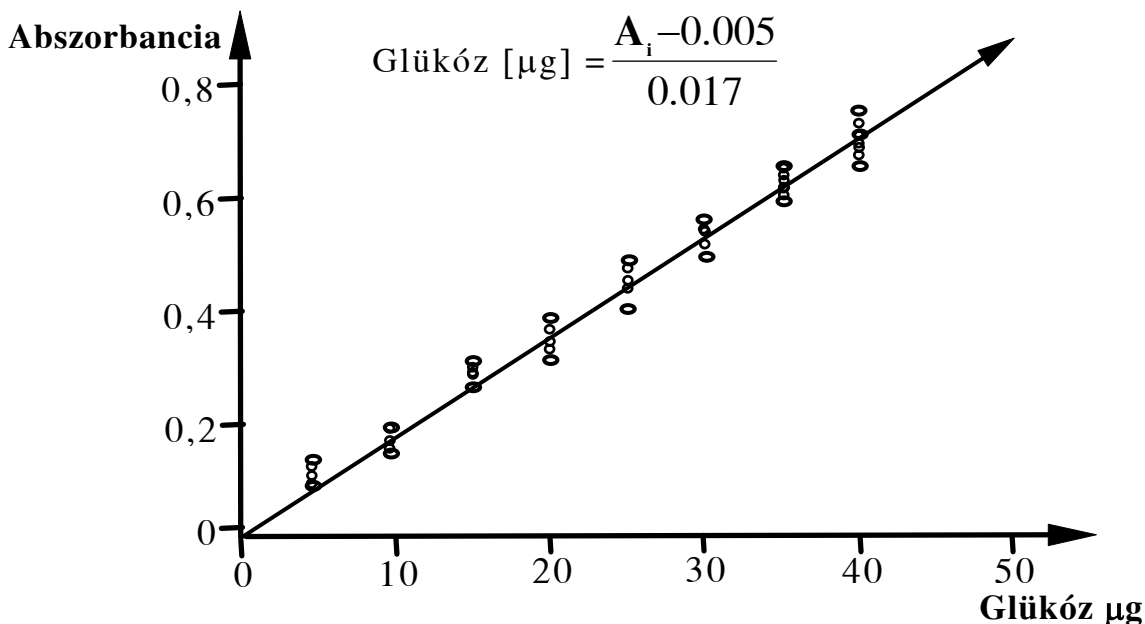
Inkubálási idő 30 perc, $37 \text{ }^\circ\text{C}$ -on.
Mérés üres mintával szemben 420 nm -en spektrofotométerben.

A glükóz standardok sorozatmérései alapján kalibrációs görbét rajzoltunk (1. ábra), illetve a mérések alapján a glükóz-tartalom és az abszorbancia érték közötti lineáris regresszió egyenletét számítottuk. A regresszióanalízis szerint a két változó között lineáris összefüggés állapítható meg.

Az egyenes egyenlete: $A_i = 0,005 + 0,017 G_1$,

(G_1 = glükóz, μg ; $r = 0,995$, $a_0 = 0,005 \pm 0,005$, $a_1 = 0,0173 \pm 0,0002$)

A kísérleti minták glükóz-tartalmát az abszorbancia mérése alapján (A_i) az ábráról (1. ábra) leolvastuk, illetve az egyenlet szerint számítottuk.



1. ábra: A glükóz kalibrációs görbéje

Glükóz-tartalom mérési módszerének ellenőrzése Boehringer teszt alapján

A módszer alkalmasságát Boehringer teszt mérésével ellenőriztük (ANON, 1986). A standard oldatok glükóz-tartalmát 5-30 μg érték-tartományban mindkét módszerrel megmértük. Az adatok alapján kiértékeljük a két mérési eredmény egybeesését. A regresszióanalízis értékelése szerint a két mérés 45° -os egyenestől való eltérése a hibahatáron belül van. Megállapítható, hogy az általunk használt módszer alkalmas a nagyszámú és különféle kísérleti minták glükóz-tartalmának a mérésére. A mérési módszer helyettesítheti a költséges Boehringer tesztet.

A glükoamiláz aktivitás meghatározása

A glükoamiláz (GA) aktivitás meghatározása glükóztartalom mérésén alapszik. Az enzim megfelelő mérési körülmények között a keményítőtől glükózt szabadít fel, a mért glükóz mennyisége az enzimaktivásra jellemző (HOSCHKE és munkatársai, 1985).

A glükoamiláz aktivitás nemzetközi egysége SIGMA meghatározás szerint (ANON, 1985): a glükoamiláz aktivitás egy egység (1 U) akkor, ha 1 cm^3 1%-os keményítőtől 3 perc alatt, pH 4,5 és 55 $^\circ\text{C}$ hőmérsékleten az enzim 1 mg glükózt szabadít fel.

A GA-aktivitás méréséhez szükséges oldatok:

Szubsztrátum oldat: 1 %-os (m/v) oldható keményítő oldat. 1 g keményítőt 100 cm^3 nátrium-acetát, 0,05 mól dm^{-3} , pH 4,5-ös pufferben oldottunk, forralásig melegítettük.

A **pufferoldat** összetétele: 1 liter oldatban nátrium-acetát (3,4 g) és 96 %-os ecetsavból (1,8 cm^3) állt. Az oldat pH-ját mérés alapján 4,5-re állítottuk be.

Triklór-ecetsav oldat: Az enzimreakció leállítására 50 % (m/v)-os triklór-ecetsav vizes oldatot használtunk.

A GA-aktivitás mérése:

Kémcsőben 1 cm^3 1 %-os keményítőoldatot 55 $^\circ\text{C}$ -on 5 percig állni hagyjuk. Hozzá adtunk 1 cm^3 (a GA-aktivitásról függően) hígított enzimmintát, jól összekevertük 55 $^\circ\text{C}$ -on, stopperrel mérve 3 percig hidrolizáltuk. A keményítőhidrolízist 0,3 cm^3 50 %-os triklór-ecetsav oldattal leállítottuk és 0,7 cm^3 , 2 mól.dm^{-3} nátriumhidroxiddal semlegesítettük. A hidrolizált oldatban keletkezett glükózt az ismertetett mérési módszer szerint meghatároztuk.

$$\text{Glükoamiláz aktivitása: } 1 \text{ U} = \frac{1 \text{ mg glükóz}}{1 \text{ cm}^3 \cdot 3 \text{ perc}} = \frac{1 \text{ mg glükóz}}{1 \text{ cm}^3 \cdot 0,05 \text{ óra}}$$

Transzglükozidáz aktivitás meghatározása

Az enzimaktivitás meghatározásakor BENSON és munkatársai (1982) analitikai módszerét követtük, akik a transzglükozidáz szubsztrátumaként α -metil-D-glükozidot (α -MG) alkalmaztak. Az enzim hatására felszabaduló glükózt az ismertetett módszerrel határoztuk meg (HOSCHKE és munkatársai, 1985, HOSCHKE, 1987, 1990).

A transzglükozidáz aktivitás méréséhez szükséges oldatok:

Szubsztrátum oldat: 2 %-os (m/V) α -MG acetát pufferben, 0,05 mól.dm⁻³, pH 4,2. A pufferoldat összetétele: 1 liter oldatban kristályos (3 H₂O) nátrium-acetát (1,8 g) és 96 %-os ecetsav 2,3 cm³, majd ellenőriztük az oldat pH-ját.

Kísérleti enzimminta: A mért oldatot szükség szerint hígítottuk acetát pufferben, pH 4,2, 0,05 mól.dm⁻³.

További szükséges oldatok a glükóz mérés oldatai voltak.

A transzglükozidáz aktivitás mérése:

Kémcsőben 0,5 cm³ mintaoldathoz 0,5 cm³ 2%-os α -MG szubsztrátum oldatot adtunk, 60 percig 40°C-on vízfürdőben inkubáltuk. Az oldatban meghatároztuk az enzim hatására felszabadult glükózt.

A transzglükozidáz aktivitás egysége:

A TG-aktivitás egy egység akkor, ha az α -MG szubsztrátumból 1 mg glükóz/cm³ szabadul fel 40 °C-on, 60 perc alatt (BENSON és munkatársai, 1982).

$$\text{Transzglükozidáz aktivitás: } 1 \text{ U} = \frac{1 \text{ mg glükóz}}{1 \text{ cm}^3 \cdot \text{óra}}$$

Glükoamiláz enzimek vizsgálata a glükóz mérésén alapuló enzimaktivitás értékek alapján

Összehasonlító vizsgálatokat végeztünk ipari és a KÉKI-ben végzett félüzemi gyártásban fermentációs úton előállított enzimek vizsgálataival (Hoschke, 1985). A kísérletek kiterjedtek a sűrítmények proteolitikus tulajdonságainak jellemzésére, az enzim stabilitását szolgáló adalékanyagok összetételére. Ezeknek a vizsgálatoknak egy részét képezte a glükoamiláz- és a transzglükozidáz-aktivitás meghatározása, amelyek a glükóz méréseken alapultak. Az összehasonlító vizsgálatok kiterjedtek az ipari enzimek vizsgálataira: OPTIDEX (MKC) L-100, L-

150, L-200, L-300 jelöléssel és a KÉKI-ben gyártott I-1, I-2, I-11, I-12 jelölésekkel ellátott termékekre (HOSCHKE és munkatársai, 1991). Az enzimaktivitás méréseket a fentebb leírtak alapján végeztük. A mérési eredményeket a 3. táblázat tartalmazza.

3. táblázat: Glükoamiláz enzimek készítmények vizsgálata enzimaktivitás értékek alapján

Enzim	Ipari OPTIDEK (MKC)				KÉKI KÉSZÍTMÉNYEK			
	L-100	L-150	L-200	L-300	I-1	I-2	I-11	I-12
aktivitás								
GA-akt kU/cm ³ óra	95	145	186	247	94	111	71	112
TG-ak. tU/cm ³ óra	2,5	5,6	6,2	6,3	7,8	9,2	6,2	6,4

Keményítőtartalmú kísérleti fóliák enzimes lebontása

A biodegradálódó csomagolóanyag kísérletek témakörében különböző eredetű keményítő-fóliák előállításával foglalkoztunk. Búza-, kukorica- és burgonyakeményítő alapanyagokból indultunk ki, adalékanyagok segítségével javítottuk a termék tulajdonságait. A fóliákkal szemben támasztott egyik követelmény a mikrobiológiai bonthatóság volt. A mikrobiológiai kísérletek előtt a biológiai lebontódás első lépéseként a fóliák enzimes hidrolízisét vizsgáltuk (TEMESVÁRI és munkatársai, 1994).

Az enzimes hidrolízist OPTITHERM 420 jelű α -amilázzal és a teljes lebontást OPTIDEX-L 300-as jelzésű glükoamilázzal végeztük. Az enzimek működéséhez optimális körülményeket biztosítottunk, az α -amiláz esetében pH: 5,5; 60-85°C és a glükoamiláz esetében pH: 4,5; 55 °C. A mérési eredmények a 4. táblázatban foglaltuk össze.

4. táblázat: Keményítőtartalmú csomagoló alapanyag enzimes bontása

Kísérleti fóliák	Glükóz konverzió %
MERCK keményítő kontrol	99 ± 1
Búzakeményítő fólia	94 ± 3
Kukoricakeményítő fólia	97 ± 2
Burgonyakeményítő fólia	98 ± 2

Enzim hidrolízis: α -amiláz, 60-85 °C, pH: 5,5, 25 perc.
Glükoamiláz, 6 GAU a reakcióelegyben, 55 °C, pH: 4,5, 120 perc.

Glükoamiláz alkalmazása kukoricakeményítő cukrosítási kísérletekben

Az enzimermentációs és feldolgozási műveletek összetett kutatási programjának egyik része volt a cukrosítási kísérletek vizsgálata (HOSCHKE, REZESSY, 1990; HOLLÓ, HOSCHKE 1992; HOSCHKE és munkatársai, 1991, 1992, 1993). Szubsztrátumként rostos, daraszemcséket tartalmazó kukoricaőrleményt használtunk. Enzimeként az ipari MKC OPTIDEX L-300 és az intézeti laboratóriumban előállított GA-4 jelű glükoamilázt alkalmaztuk. A cukrosítási kísérletek célja részben a 60 DE (Dextróz ekvivalens) értékű hidrolizált keményítő végtermék elérése volt. Meghatároztuk a szükséges reakcióidőt 1000 cm³ térfogatban és összehasonlító méréseket végeztünk a két enzimek-szítménnyel. A reakciókörülmények a következők voltak: 330 GAU/kg keményítő, 60°C, pH: 4,8 és 1-8 óra reakcióidő. Az eredményeket az 5. táblázatban glükóz mérések alapján DE-értékben adtuk meg.

5. táblázat: Cukrosítás 1000 cm³ térfogatban ipari és laboratóriumi enzimek-szítménnyel

Reakcióidő Óra	OPTIDEX L-300 DE %	KÉKI GA-4 DE %
1	27	32
6	63	65
8	69	73

Dextróz ekvivalens, DE % = $\frac{G}{S} \cdot 100$, G= glükóz mg/cm³, S= szárazanyag-tartalom mg/cm³

A vizsgálat alapján az enzimek-szítmenny megfelelt az ipari követelményeknek, 6 órai hidrolízis reakcióidővel elértük a 60 DE értéket. A laboratóriumi készítmény hatékonysága nem maradt el az iparitól.

A keményítő cukrosítási folyamatokban a méretnövelés ronthatja a konverziót, ezért a reakciót nagyobb térfogatban is elvégeztük: 20 dm³ és 1000 dm³ térfogatban, 98 % DE értékig. A méretnövelési kísérletekben a minták glükóztartalmát az ismertetett módszerrel határoztuk meg és ebből számítottuk a DE % értékeket. A mintákat 12 órás időközönként vettük. A 6. táblázatban bemutatott cukrosítási folyamat mérési eredményeiből következik, hogy a léptéknövelés nem befolyásolja jelentősen az enzim működését.

A kukoricalapú ipari-cefre cukrosítási foka a 60-70 DE% értékben, ez 6 órás reakcióidő betartásával elérhető.

6. táblázat: A kukoricakeményítő cukrosítási folyamata 20 és 1000 dm³ térfogatban

Reakcióidő Óra	Térfogat	
	20 dm ³ , DE %	1000 dm ³ , DE %
12	58	61
24	84	85
36	97	96
48	98	97

Következtetések

Az enzimes glükózmérési módszer alkalmazása az összetett kutatási programokban, a heterogén minták vizsgálatában, az élelmiszeripari enzimek előállításában, a biotechnológiai eljárásokban alapvető jelentőségű volt. A glükózmérési technika kulcsszerepet töltött be a kutatási feladatok teljesítésében. Az ismertetett példákon kívül a géntechnikai mutációs kísérletekben az enzimaktivitások meghatározása alapján ki tudtuk választani a legnagyobb glükóamiláz- és a legkisebb transzglükozidáz-aktivitást képviselő enzimtermelő törzseket.

Glükóz mérések alapján is megvalósítható a laktáz enzimmel végzett kísérleti minták vizsgálata. A tejiparban már a termelés szintjén foglalkoznak laktóz-mentes vagy csökkentett laktóz-tartalmú tej előállításával. A tejcukor bontását laktáz enzimmel végzik. A diszacharid bontásának mértékét a galaktóz mellett lehasadt glükóz specifikus mérésével, az ismertetett módszer segítségével szintén ellenőrizhetjük.

A továbbiakban számos lehetőség van a módszer alkalmazására, ahol más anyagok mellett a glükóz specifikus meghatározására van szükség.

Irodalomjegyzék

- ANON (1985): SIGMA Chemical Company. The product information. Amyloglucosidase, E.C. 3.2.1.3. Saint Louis, USA, 165.
- ANON (1986): Methods of Biochemical Analysis and Food Analysis, using Test.-Combinations. D-Glucose, Cat. No. 716 251. Biochemica Boehringer Mannheim, Germany, 36-37.
- BENSON, C.P., KELLY C.T. FOGARTY, W.M. (1982): Production and quantification of transglucosidase from *Asp. niger*. J. Chem. Techn. Biotechnology **32**, 790-798.
- BERGMEYER, H.U., BERNT, E. (1974): Determination with Glucose Oxidase and Peroxidase. In. BERGMEYER, H.U. (1974): Methods of Enzymatic Analysis. Vol. 3., Academic Press, New York and London, 1205-1015.
- BROWNE, C.A., ZERBAN, F.W. (1948): Physical and Chemical Methods of Sugar Analysis. Third edition, John Wiley and Sons. London, pp. 1-1352.

- DUBOIS, M., GILLES, K.A., HAMILTON, J.K., REBERS, P.A. SMITH, F. (1956): A colorimetric method for the determination of sugars and related substances. *Anal. Chem.* **28**, 350-356.
- HOLLÓ J., HOSCHKE Á. (1992): A keményítő biokonverziója. Szerk.: CSÁKVÁRI BÉLA. A kémia újabb eredményei 74. kötet. Akadémia Kiadó, Bp.145-187.
- HOSCHKE Á., (1985 a): A keményítőipari enzimmészítmények. Szerk.: SÓLYOM L. és KUDRON J., Keményítő és keményítőipari termékek gyártása. Mezőgazdasági Kiadó, Budapest, 34-113.
- HOSCHKE Á., TEMESVÁRI J. (1985 b): Glükóamiláz- és transzglükózidáz-aktivitás meghatározási módszerek kifejlesztése. -In: Enzimes analitikai módszerek továbbfejlesztése élelmiszervizsgálatok céljára. KÉKI Kutatási Jelentés, Budapest, 34-48.
- HOSCHKE Á. (1987): Amilolitikus enzimek előállítás-technológiájának fejlesztése. KÉKI Kutatási Jelentés, Budapest, 1-99.
- HOSCHKE Á. (1990 a): Recent results of amylolytic enzymes research. *Acta Alimentaria*, **19**, 2, 210-211.
- HOSCHKE Á., REZESSY-SZABÓ J. (1990 b): Glükóamiláz fermentációs technológia kidolgozása és félüzemi megvalósítása. KÉKI Kutatási Jelentés, Budapest, 1-125.
- HOSCHKE Á., KLUPP-FORRAY G., REZESSY-SZABÓ J., TEMESVÁRI J. (1991): Amilolitikus enzimek előállítása. KÉKI Kutatási Jelentés, Budapest, 1-59.
- HOSCHKE Á., REZESSY-SZABÓ J., NAGY-GASZTONYI M. VERECZKEY G. (1992): Glükóamiláz enzimfermentációs és feldolgozási műveletei. "Korszerű műveletek az élelmiszerek előállításánál". IX. Élelmiszertudományi Konferencia. Budapest, máj. 28-29. KÉKI Abstracts, pp 40.
- (1993): Fermentation and downstream processing on glucoamylase. IXth Conference on Food Science. *Acta Alimentaria*, **22**, 1, Abstract, 75-76.
- HUGGETT, A.S., NIXON, D.A. (1957): Enzymic determination of blood glucose. *Biochem. J.*, **66**, 12.
- ÖRSI F. (1981): Szénhidrátok meghatározása automatikus módszerekkel, 59-79. -In: Automatikus analízis az élelmiszeriparban. Mezőgazdasági Kiadó, Budapest.
- POLACSEK-RÁCZ M. (1983): Egyszerű módszer a glükóz- és szacharóztartalom mérésére rögzített glükózoxidázzal. *Élelmiszervizsgálati Közlemények*, **29**, 3, 131-142.
- (1983): A szénhidrátok meghatározása élelmiszerekben enzimanalitikai módszerekkel. *Élelmezési Ipar*, **37**, 168-174.
- SHELLER, F., SCHUBERT, F. (1992): Glucose Sensors, 85-125. -In: Biosensors. Techniques and Instrumentation in Analytical Chemistry. Vol. 11. Elsevier Sci. Publ. Co., Amsterdam.
- SOMOGYI M. (1945): A new reagent for the determination of sugars. *J.Biol. Chem.* **160**, 61-68.
- SZABÓ A., MORVAY J. (1984): Glükóz meghatározása. 61-68. -In: Analitikai módszerek a klinikai kémiában. A kémia újabb eredményei 57. kötet. Akadémia Kiadó, Budapest.
- TEMESVÁRI J., KLUPP-FORRAY G., HOSCHKE Á. (1993): Study of the conditions of fermentation for the production of glucoamylase. *Acta Alimentaria*, **22**, 4, 283-294.
- TEMESVÁRI J., BECZNER J., CZUKOR B. (1994): Development of biodegradable packaging based on starch additives. Proceedings of the ICC Int. Symposium, 1993. Budapest, Hungary, pp. 221.

Glükóztartalom enzimés meghatározása kísérleti mintákban

Temesvári János és Hoschke Ágoston

A glükóztartalom meghatározására biztonságosan mérhető enzimés módszerrel alkalmaztunk. A vizsgálati minták mérésére kísérleti úton egy megfelelő összetételű glükózoxidáz, peroxidáz, orto-dianizidin reagensoldatot állítottunk elő. A színintenzitás változását spektrofotométerrel határoztuk meg. A módszer pontosságát Boehringer teszt segítségével ellenőriztük. A glükóztartalom mérési módszerrel meghatároztuk a különböző kísérleti minták glükóamiláz-, transzglükózidáz-aktivitását. Nyomon követtük a keményítőtartalmú kísérleti fóliák lebontását, valamint a kukoricakeményítő cukrosítási folyamatát. Ezenkívül az élelmiszeripari enzimek előállítását szolgáló géntechnikai kísérletek mintáit vizsgáltuk.

Enzymatic Determination of Glucose Content in Experimental Samples

Temesváry, J. and Hoschke, G.

A reliable enzymatic method was applied to the determination of glucose content. For the measurement of experimental samples a relevant mixture of glucose oxidase, peroxidase and orto-dianisidine reagent solution was composed. The change in colour intensity was determined by spectrophotometry. The precision of the method was controlled by a Boehringer test. By the glucose measurement method, the glucoamylase and trans-glucosidase activity of the different experimental samples were determined. The decomposition of starch-based experimental foils as well as the saccharification process of corn starch were tracked. Samples of gene-technical experiments aiming the preparation of food industrial enzymes were also studied.

Enzymatische Bestimmung des Glucosegehaltes in Prüfmustern

Temesvári, J. und Hoschke, Á

Zur Bestimmung des Glucosegehaltes wurde eine zuverlässig meßbare enzymatische Methode angewandt. Für die Messung der Prüfmustern wurde auf dem Versuchswege eine Glucoseoxidase - Peroxidase - Orto - Dianizidin - Reagenzlösung hergestellt. Die Änderung der Farbintensität wurde mit Spektrophotometer bestimmt. Die Genauigkeit der Methode wurde mit Hilfe des Boehringer Tests überprüft. Mit der Glucosegehalt - Meßmethode wurde die Glucoamylase- und Trans - Glucosidase - Aktivität von verschiedenen Prüfmustern bestimmt. Der Abbau der stärkehaltigen Versuchsfolien und der Verzuckerungsprozess von Maisstärke wurden verfolgt. Außerdem wurden Prüfmuster von gentechnischen Versuchen untersucht, die zur Herstellung von Enzymen für die Lebensmittelindustrie dienen.