

Takarmányok és élelmiszerek cisztintartalmának meghatározása ciszteinformában. A redukció mint a cisztinmeghatározás hibaforrása

CSAPÓ JÁNOS és CSAPÓNÉ KISS ZSUZSANNA

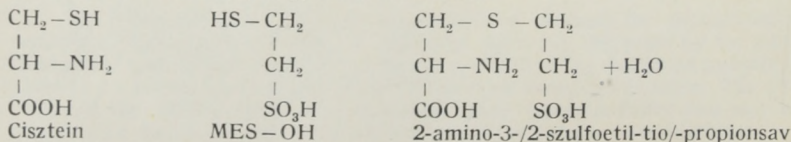
Mezőgazdasági Főiskola Kaposvár

Érkezett: 1985. augusztus 15.

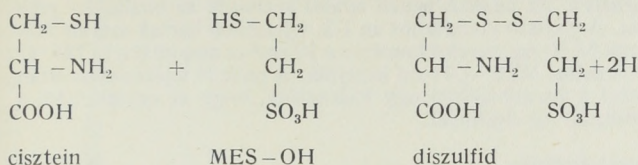
A szerzők egy korábbi tanulmányban (Csapó, 1983) beszámoltak arról, hogy a merkaptó-etán-szulfonsavval végzett fehérjehidroliziskor a vizsgált anyagok triptofántartalma a legnagyobbak adódott az összes hidrolízis módszer között, a módszer hibája viszont, hogy a cisztintartalmat nem lehet vele meghatározni a cisztin ciszteinné történő redukciója és a cisztein és a merkaptó-etán-szulfonsav (MES-OH) szulhidril csoportja között feltételezhetően létrejövő tioéter kötés miatt. Jelen dolgozatukban a cisztein ioncserés oszlopkromatográfiával történő meghatározásáról és a ciszteinen keresztül élelmiszerek és takarmányok MES-OH-as hidrolízissel mért cisztintartalmának meghatározásáról számolnak be. A cisztinból és a MES-OH-ból előállított ciszteint használva standardként, a különböző minták cisztintartalmát a Moore és Stein (1963) által javasolt 6 mólos sósavas, a Liu és Chang (1971) által javasolt 3 mólos para-toluol-szulfonsavas és a Hirs (1956) által javasolt perhangyasavas oxidációt követő 6 mólos sósavas hidrolízis utáni meghatározás eredményeivel jól össze lehet vetni. A cisztein aminosavanalízatoron történő meghatározásánál a mintákhoz hozzáadott cisztint 90%-nál jobb hatásfokkal nyerték vissza.

Penke és munkatársai (1974) a fehérje triptofántartalmának meghatározására MES-HO-val hidrolizálták a fehérjét. A triptofántartalmat 22 órás hidrolízis után 5 analízis átlagában 94,5%-ban kapták vissza, bár a szerzők megjegyzik, hogy módszereket nem alkalmazták élelmiszerek triptofántartalmának meghatározására. 1983-ban végzett vizsgálat sorozataink (Csapó, 1983) teljes mértékben alátámasztották fenti szerzők állításait, így mi is az általunk vizsgált hidrolízis módszerek közül a MES-OH-val végzett hidrolízis esetében kaptuk a legnagyobb értéket a triptofánra. A szulfonsavak optimális hidrolízis hőmérsékletén 125 °C-on végezve a hidrolízist, a cisztin kivételével az összes aminosavra megfelelő eredményeket lehet kapni, sőt a redukáló közeg miatt a minták metionintartalma lényegesen magasabb, mint az egyéb hidrolízis módszerek esetében. A módszer igen nagy hátránya a gyakorlód szakember számára, hogy a cisztin redukciója és a MES-OH és a cisztein szulhidril csoportja között valószínűleg létrejövő tioéter kötés miatt cisztint a vizsgált mintákból nem lehet kimutatni. A tioéter kötés létrejöttének közvetett bizonyítéka a képződött kénhidrogén. A kénhidrogén meghatározás alapján közvetlenül azonban nem lehet a tioéter kötésben szereplő cisztein mennyiségére következtetni, mert a kénhidrogén nemcsak ebben a reakcióban keletkezik, hanem származhat a MES-OH bomlásából is a hidrolízis folyamán.

A reakció feltételezett egyenlete a következő:



Livermore és Muecke (1954) szerint a cisztein egyéb jelenlevő szulfhidril vegyületekkel kevert diszulfidokká is képezhető. Fenti állítás szerint feltételezhető egy diszulfidképződés is, melynek valószínű reakció egyenlete a következő:



Bár a tiolok oxidációval szemben rendkívül érzékenyek és már enyhe oxidációs hatásra is diszulfidokká dehidrogénezhetőek, a diszulfidképződéshez vezető reakció a MES-OH redukáló közegében nem valószínű. Sokkal valószínűbb az első reakció, amikor a két szulfhidril csoport között tioéter kötés jön létre.

Annak bizonyítására, hogy vajon a fenti átalakulással kapott 2-amino-3-/2-szulfotil-tio-/propionsav (a továbbiakban tioéter) ioncserés oszlopkromatográfiával elválasztható-e a többi aminosavtól és mennyiségét hozzáadva a redukcióval keletkezett ciszteinhez a minták cisztintartalma meghatározható-e, illetve a cisztein és a kapott esetleg ninhidrin pozitív vegyület valamelyik aminosav csúcsba bemosódva meghamisítja-e annak mérési eredményét, végeztünk kísérleteket. Kísérleteink eredményéről az alábbiakban számolunk be.

1. Anyag és módszerek

1.1. A vizsgált anyagok

Vizsgálatainkat egy alacsony és egy magas cisztintartalmú mintával végeztük el. Alacsony cisztintartalmú mintának a tejpört választottuk, melyet holstein-fríz tehének tőgyéből fejve azonnali liofilezéssel állítottuk elő (OE-950. típus. Labor MIM, Magyarország) -50 °C-on. A tejpör nyersfehérje-tartalma 35,4% melyet a Kjell-Foss gyorsnitrogén elemzővel (Kjell-Foss 16 200, Foss Electric, Dánia) határoztuk meg. A magas cisztintartalmú mintának a toll-lisztet választottuk, melyhez a tollat fehér broilerekéről tépéssel nyertük ügyelve arra, hogy a pehely és a fedőtollak aránya lehetőleg azonos legyen a csirke tollarányával. A tollat szárítószelekrényben 24 órán át 60 °C-on megszáritottuk, ollóval 2-3 mm-es darabokra összevágtuk, és mikroculatti dörzsmalomban (DFH-48, Janke-Kunkel, NSZK) lisztfinomságúvá megőröltük. A toll-liszt nyersfehérje-tartalma 90,8%. A tejpör esetében a nyersfehérje-tartalmat a N%×6,38; a toll-liszt esetében N%×6,25 szerint számoltuk.

1.2. Hidrolízis és a hidrolizátum feldolgozása

A vizsgált mintákból – előzetes zsírtalanítás után – 50 mg-ot mértünk be egy előzetesen króm kénsavval mosott 10 cm³-es ampullába. A bemért anyaghoz hozzáadtuk 10 cm³ 3 mólos merkaptó-etán-szulfonsavat (MES-OH) (*Pierce*, Product Number: 25555), és 24 órán át *Liu és Chang* (1971) által javasolt 125 °C-on hidrolizáltuk. Lehűlés után az ampullákat feltörtük, majd pH-ját állandóan só-jég hűtőkeverékben tartva, ügyelve arra, hogy a hőmérséklet a 30 °C-ot ne haladja meg, 4 mólos nátrium-hidroxiddal pH = 2,2-re állítottuk be. Ezt követően az egész hidrolizátumot 50 cm³-es mérőlombikba mostuk át pH = 2,2-es citrát-pufferrel, majd a jelretöltés után Filtrak 388-as szűrőpapíron szűrtük és az automatikus aminosavanalizátorba történő betáplálásig (LKB 4101, LKB Biochrom Ltd., Anglia) -25 °C-on mélyhűtőpultonban tároltuk teflonedényekben.

1.3. Analízis

A minták aminosavtartalmának meghatározását az LKB 4101-es típusú automatikus aminosavanalizátorral végeztük MERCK gyártmányú aminosav kalibrációs standardot használva. Az analízis egyéb adatai azonosak az analizátor gépkönyvében leírtakkal. A cisztein standardot az 1.2. fejezetben leírtak szerint állítottuk elő és dolgoztuk fel 50 mg cisztint bemeve a 10 cm³-es ampullába és 125 °C-on 24 órán át 5 cm³ 3 mólos MES-OH-val kezeltük. A reakció lejátszódása után kapott cisztein csúcsot a továbbiakban úgy használtuk, hogy az egyenértékű a megfelelően meghígított 50 mg cisztinnel.

1.4. A kromatogramok értékelése

A minták egyes aminosavjainak mennyiségi kiértékelését a kromatogramon kapott csúcs alatti területnek ismert koncentrációjú aminosav standard csúcs alatti területhez történő hasonlítással végeztük el. A cisztein mennyiségi meghatározására az 1.2. pontban leírtak szerint előállított standardot használtuk.

1.5. Statisztikai analízis

A kapott eredmények középértékét és a szórásokat, a középértékek összehasonlítását, az egyszempontos varianciaanalízis számolását a PTK-1096 típusú zseb-számológéppel (Hiradástechnikai Szövetkezet Budapest, Magyarország) végeztük el. Az összehasonlított mérési eredmények homogenitás vizsgálatát előzetesen Bartlett-próbával elvégeztük.

2. Eredmények

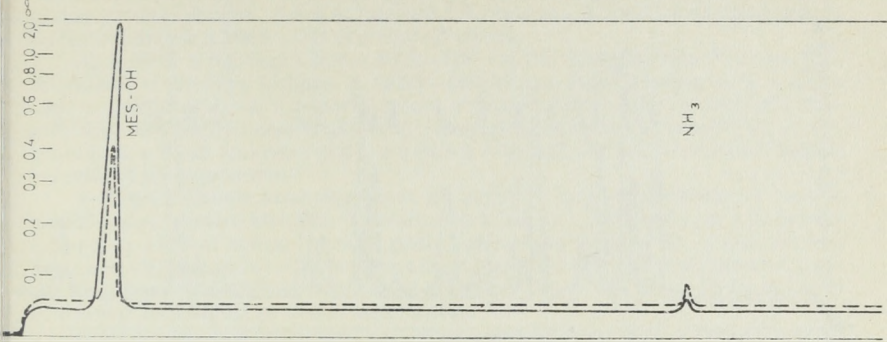
Az 1. ábrán a 24 órán 125 °C-on tartott MES-OH kromatogramja látható. A kromatogramon a front után közvetlenül jelenik meg a ninhidrin pozitív csúcs amelynek abszorpciója 440 nm-en többszöröse az 570 nm-en mért abszorpciónak. A kromatogramon az ammónia helyén az értékelhetőség határára levő ninhidrin pozitív csúcsot kaptunk. (Az ábrákon a következő rövidítéseket használtuk: MES-OH = merkapto-etán-szulfonsav, Asp = aszparaginsav, Thr = treonin, Ser = szerin, Glu = glutaminsav, Pro = prolin, Gly = glicin, Ala = alanin, Val = valin, Met = metionin, Ile = izoleucin, Leu = leucin, Tyr = tirozin, Phe = fenilalanin, NH₃ = ammónia, Lys = lizin, His = hisztidin, Arg = arginin).

A 2. ábrán a 125 °C-on 24 órán át 5 cm³ MES-OH-val kezelt 50 mg cisztin 250 szoros hígítás utáni kromatogramja látható. A MES-OH csúcsa az analízis kezdete után a ciszteinsav helyén jelenik meg, ezt követően a cisztein a prolinhoz igen közel, kissé a glicin felé az analízis 44. percében okoz abszorpciót, és jól értékelhető a minimális mennyiségben jelen levő ammónia. A cisztein 440 nm-en mért fényelnyelése az általunk használt puffer ninhidrin arány mellett 65,4%-kal több (a kapott csúcs alatti területek alapján) mint az 570 nm-en mért fényelnyelés.

A 3. ábrán a MES-OH, a cisztein és az analizátorba betáplálás előtt a hidrolizátumhoz hozzámért 50 mg cisztin 250 szoros hígítása látható. A cisztein csúcs az analízis 44. percében a cisztin csúcs pedig az analízis 57. percében éri el maximumát. A kromatogramon jól értékelhető az ammónia. A 2. és 3. ábrán a MES-OH csúcsa után a kromatogramon nyíllal jelölt helyen jól szembetűnő, bár a mennyiségi analízis szempontjából használhatatlan, a MES-OH-ba részlegesen beleolvadt válcúcsot kaptunk. Mivel az 1. ábrán ezt a csúcsot nem lehet azonosítani, feltételezhető, hogy ez a csúcs a ciszteinhez képest igen kis mennyiségben keletkezett tioéter.

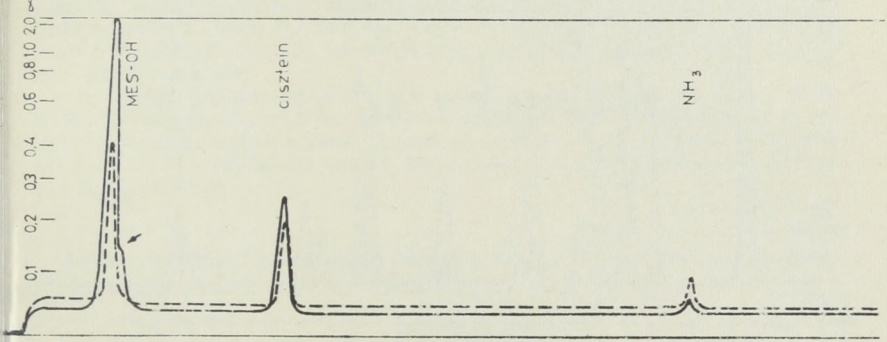
1. ábra

Merkapto - etán - szulfonsav (MES - OH)



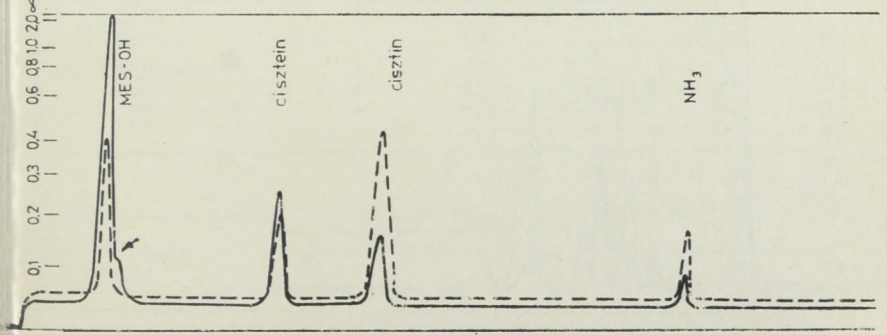
2. ábra

MES-OH + cisztein + 125 °C-on 24 órán át

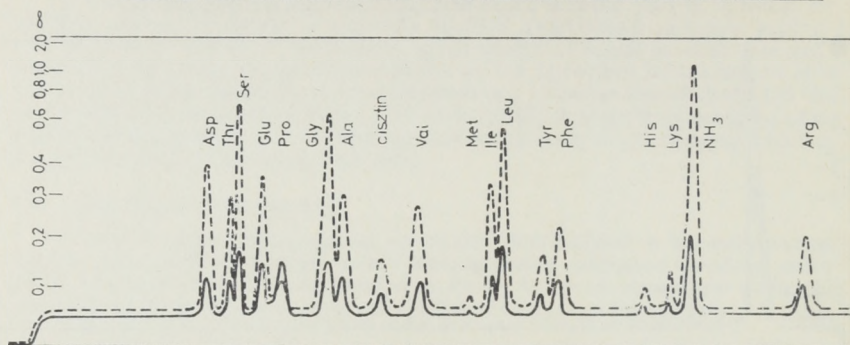


3. ábra

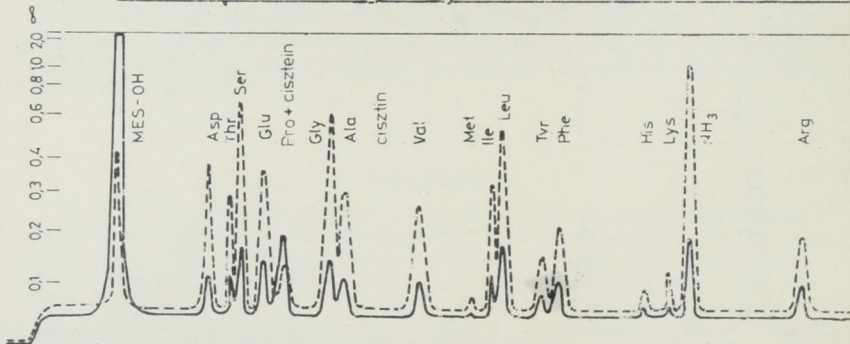
MES-OH + cisztein 125 °C-on 24 órán át + cisztein



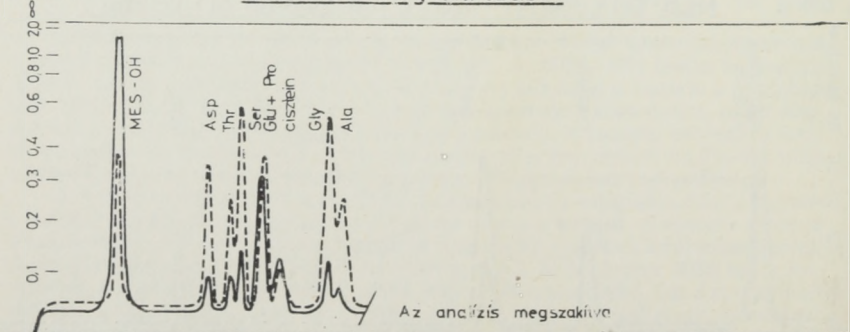
4. ábra A toll-liszt kromatogramja 6 mólos sósavval hidrolizálva



5. ábra A toll-liszt kromatogramja 3 mólos MES-OH-vel hidrolizálva



6. ábra A cisztein meghatározása



A 4. ábrán a toll-liszt 6 mólos sósavval 110 °C-on 24 órán át végzett hidrolízisének eredménye látható. A kromatogramból kiténik, hogy a toll-liszt sok cisztint és igen kevés metionint, lizint és hisztidint tartalmaz. A kromatogramról természetesen hiányzik a MES – OH és a cisztein csúcsa.

Az 5. ábrán a toll-liszt 3 mólos MES – OH-val 125 °C-on 24 órán át végzett hidrolízisének eredménye látható. A MES – OH csúcsa után jelennek meg a savas aminosavak, a prolin és a cisztein csúcsa az alkalmazott pufferrendszerrel összemósodik, külön-külön nem értékelhető, hiányzik az alanin és a valin között a cisztin csúcsa, a többi aminosav pedig a 6 mólos sósavval végzett hidrolízisnél kapott csúcsokkal jól összevethető.

A 6. ábrán látható kromatogramot az alábbiak szerint állítottuk elő. Az ioncserélő oszlop hőmérsékletét 30 °C-ra állítottuk be. Az I. puffer pH-ját 3,25 helyett 3,55-re; az alkohol koncentrációját pedig 1,25-szörösére növeltük. Ezzel elértük, hogy a prolin beleolvadt a glutaminsavba, a prolin helyén a kromatogramon pedig megjelent a jól értékelhető cisztein csúcsa. A prolin csúcsának glutaminsavba mosódását hozzáadott prolinnal ellenőriztük.

A MES – OH és a feltételezetten tioéter csúcs elválását ezzel a módszerrel sem sikerült javítani.

A toll-liszt MES – OH-as hidrolízisét követően meghatároztuk az alacsony cisztintartalmú tejpor aminosavösszetételét is a MES – OH-as hidrolízissel. A kromatogramon a cisztin csúcsa teljesen eltűnt, azonban az igen kis koncentrációk miatt a keletkezett ciszteint semmiféle kromatografálási technika alkalmazásával sem tudtuk kimutatni.

A toll-liszt ciszteintartalmára a 6 mólos sósavas hidrolízissel és a 3 mólos MES – OH-as hidrolízissel 5 párhuzamos vizsgálattal kapott eredményeket 1. táblázatban, az egyszempontos varianciaanalízis eredményeit a 2. táblázatban, a hozzáadott cisztin visszanyerésére végzett kísérleteink eredményeit pedig a 3. táblázatban foglaltuk össze.

1. táblázat

A fehér tyúktoll-liszt cisztintartalma 6 mólos sósavas és 3 mólos MES – OH-as hidrolízissel

Hidrolízis módszer	Cisztintartalom	
	g. aminosav/100 g toll	g. aminosav/100 g fehérje
6 mólos sósav		
átlag	6,33	7,50
± szórás	0,19	0,23
szórás %	3,00	3,10
3 mólos MES – OH		
átlag	6,13	7,26
± szórás	0,29	0,35
szórás %	4,73	4,82

2. táblázat

A toll-liszt cisztintartalmára 6 mólos sósavas és 3 mólos MES – OH-as hidrolízissel kapott eredmények egyszempontos varianciaanalízise

A számláló	A nevező	Kapott F-érték	F-érték a táblázatból	Szignifikancia szint
szabadsági foka				
1	8	1,41	25,42 P = 0,1 %	

A hozzáadott cisztin visszanyerésére végzett kísérletek eredménye

Cisztintartalom (g. aminosav/100 g minta)	Hidrolízis módszer	
	6 mólos sósavas	3 mólos MES-OH-as
Toll-liszt	6,33 (100%)*	6,13 (100%)
99 mg toll-liszt + 1 mg cisztin ...	7,28 (99%)	6,92 (97%)
98 mg toll-liszt + 2 mg cisztin ...	8,19 (98%)	7,84 (96%)
97 mg toll-liszt + 3 mg cisztin ...	9,12 (98%)	8,72 (96%)
95 mg toll-liszt + 5 mg cisztin ...	11,10 (98%)	10,58 (95%)
90 mg toll-liszt + 10 mg cisztin ...	15,99 (98%)	14,63 (91%)

* A zárójelben az elméletileg várható értékhez viszonyított visszanyerés százalékát tüntették fel.

A mennyiségi meghatározásra a 1.2. pontban leírtak szerint előállított cisztein standardot úgy használtuk, hogy azt egyenértékűnek vettük azzal a cisztinnel, amit a cisztein előállításához felhasználtunk és az egyéb átalakulásokat (tioéter, esetleg diszulfid) és a bomlást figyelmen kívül hagytuk.

3. Következtetések

Az 1–6. ábrából világosan kitűnik, hogy a MES-OH-val végezve a fehérjék hidrolízisét, a frontban megjelenik a MES-OH csúcsa, melynek abszorpciója a 440 nm-es hullámhosszon többszöröse az 570 nm hullámhosszon mértnek. Cisztint adva a MES-OH-hoz, a hidrolízist követően a prolin helyén, de kissé a glicinhez közelebb jelenik meg a MES-OH és a cisztin közötti reakció révén keletkezett cisztein. A cisztein fényelnyelése 440 nm-en az általunk használt puffer-ninhidrin arány mellett 65,4%-kal több, mint az 570 nm-en mérté.

A 3. ábrából jól látható, hogy a cisztin jóval később jelenik meg a kromatogrammon, mint a cisztein, és a csúcs jellege, valamint fényelnyelése is egészen más mint a ciszteiné.

A 2. és 3. ábrán a MES-OH-ba részlegesen beleolvadva mennyiségileg értékelhetetlen ninhidrin pozitív csúcs jelent meg a kromatogramon, ami feltételezhetően a keletkezett tioéter. Összehasonlítva a toll-liszt kromatogramját 6 mólos sósavval, illetve 3 mólos MES-OH-val végzett hidrolízis után megállapítható, hogy a 3 mólos MES-OH-as hidrolízis után a kromatogramon eltűnik a cisztin, és a keletkezett cisztein jelentősen megnöveli a prolin csúcsot. Fentiekből következik, hogy normál kromatografálási technikával, amely minden aminosavra közel optimális elválasztást ad, a ciszteint a prolintól nem lehet elválasztani. Ha megnöveljük az I-es puffer pH-ját és alkoholtartalmát, valamint lecsökkentjük az oszlop hőmérsékletét, akkor ezzel a prolin és a cisztein egymástól elválasztható, a cisztein értékelhetővé válik a kromatogramon. Ezzel szemben értékelhetlenné válik a glutaminsav és a prolin és erősen romlik az elválás a glicin és az alanin között.

Az 1. táblázat adataiból a világosan kitűnik, hogy nincs szignifikáns különbség a 6 mólos sósavas hidrolízis után cisztin alakban, vagy a 3 mólos MES-OH-as hidrolízis után cisztein alakban meghatározott cisztintartalom között a toll-liszt esetében, bár a cisztein mérések átlaga valamivel kisebb a cisztinformában meghatározott átlagnál. A 3. táblázat adatai egyértelműen bizonyítják, hogy a hozzáadott cisztint cisztein formában meghatározva 90%-nál jobb hatásokkal lehet visszamérni. Méréseinknél a cisztein standardot cisztinből állítottuk elő, a kapott

ciszteint egyenértékűnek vettük a cisztinnel, figyelmen kívül hagyva az egyéb átalakulásokat és a bomlást. A kapott eredmények ellenére a cisztintartalom meghatározására sorozatmérések esetén véleményünk szerint a MES-OH-as hidrolízis nem használható, mert igaz ugyan, hogy a 6 mólos sósavas és a 3 mólos MES-OH-as hidrolízissel meghatározott cisztintartalomban nincs lényeges különbség és a MES-OH-val a mintához hozzáadott cisztint is 90%-nál jobb hatásfokkal lehet visszanyerni, de az analízis körülmények megváltoztatása nem éri meg a fáradságot. Ha MES-OH-s hidrolízis esetén ugyanabból a hidrolizátumból akarnánk meghatározni az összes aminosavat, akkor két külön analízist kellene végezni, hisz a megváltoztatott I-es pufferrel a glutaminsavat és a prolint nem lehet, a glicint és az alanint pedig csak pontatlanul lehet kiértékelni. A módszer hibája azonban ezenkívül az is, hogy csak nagy cisztintartalmú fehérjéknél lehet használni. Alacsony cisztintartalmú anyagoknál, mint amilyenek az élelmiszerek és a takarmányok nagy része, a ciszteint kimutatni igen nehéz.

Az elmondottakat összegezve lehet ugyan nagy cisztintartalmú anyagoknál a MES-OH-as hidrolízissel cisztint meghatározni, de a metodikai nehézségek miatt ez nem ajánlható. Célszerűbb lenne a cisztint külön perhangyasavas oxidációval ciszteinsav formában gyorsított betáplálással (Csapó, 1982) aminosavanalízatoron, illetve Holz (1981) módszere szerint fotometriásan meghatározni.

Vizsgálataink eredményének tekinthető az is, hogy felhívtuk a figyelmet arra, miszerint a MES-OH-as hidrolízisnél a cisztinből létrejött cisztein a prolin helyén jelenik meg a kromatogramon és ez különösen magas cisztintartalmú fehérjék esetében a prolin vizsgálati eredményeket meghamisíthatja.

I R O D A L O M

- Csapó J. (1982): Gyors módszer élelmiszerek és takarmányok cisztintartalmának meghatározására ioncserés oszlopkromatográfiával. (A quick method for the determination of the cystine content of foods and feeds by means of ion exchange column chromatography). *Élelmiszer-vizsgálati Közlemények*, 4. 163–172.
- Csapó J. (1983): Takarmányok és élelmiszerek aminosav-összetételének meghatározása különböző fehérjehidrolízis módszerekkel. (Determination of amino acid composition of foods and feeds using by different methods of protein hydrolysis). *Élelmiszervizsgálati Közlemények*, 3–4. 159–171.
- Hirs, C. H. W. (1956): The oxidation of ribonuclease with performic acid. *J. Biol. Chem.*, 219. 611–621.
- Holz, F. (1981): Automatisierte, photometrische Direktbestimmung von Methionin und Cystein. *Landwirtsch. Forschung*, 34. 35–50.
- Liu, T. Y. et. Chang, Y. H. (1971): Determination of tryptophan. Hydrolysis of protein with p-toluene-sulfonic acid. *J. Biol. Chem.*, 246. 2842–2848.
- Livermore, A. H. – Muecke, E. C. (1954): Formation of a mixed disulphide of cysteine and glutathione. *Nature*, 173. 265–266.
- Moore, S. et. Stein, W. H. (1963): Chromatographic determination of amino acids by the use of automatic recording equipment. *Methods in Enzymology*, 6. 819–831. x
- Penke, B. – Ferenczy, R. et Kovács, K. (1974): A new acid hydrolysis method for determining tryptophan in peptides and proteins. *Anal. Biochem.*, 60, 45–50.

TAKARMÁNYOK ÉS ÉLELMISZEREK CISZTINTARTALMÁNAK MEGHATÁROZÁSA CISZTEINFORMÁBAN. A REDUKCIÓ MINT A CISZTIN-MEGHATÁROZÁS HIBAFORRÁSA

Csapó János és Csapóné Kiss Zsuzsanna

A mekapto-etán-szulfonsavval (MES-OH) végzett fehérjehidrolíziskor a cisztintartalmat nem lehet meghatározni a cisztin ciszteinné történő redukciója és a cisztein és a MES-OH szulfhidril csoportja között feltételezhetően létrejövő tioéter kötés miatt. A MES-OH hatására keletkezett cisztein az ioncserés oszlop-

kromatográfiás meghatározáskor a prolin helyén jelenik meg a kromatogramon és különösen magas cisztintartalmú fehérjék esetében ez az összemosódás a prolin vizsgálati eredményeit meghamisítja. A szerzők által kidolgozott módszerrel a ciszteint és a prolint el lehet választani egymástól, de ezzel egyidőben romlik a glicin és az alanin elválása és a prolin és a glutaminsava gyakorlatilag összemosódik. A fenti metodikai nehézségek miatt a szerzők nem javasolják a cisztin meghatározására a MES—OH-as hidrolizist.

DETERMINATION OF CYSTINE CONTENT OF FEED AND FOOD IN THE FORM OF CYSTEINE. REDUCTION AS THE SOURCE OF ERROR IN CYSTINE DETERMINATION

Csapó, J. and Csapó-Kiss, Zs.

In the protein hydrolysis performed with mercaptoethanesulfonic acid (MES—OH) the cystine content can not be determined because of the reduction of cystine into cysteine and the thioether link presumably formed between the cysteine and the sulfhydryl group of MES—OH. In the ionic exchange chromatographic determination the cysteine formed by the effect of MES—OH appears on the chromatogram in the place of proline, and this overlapping causes error in the proline content, especially in case of proteins with high cystine content. Using the method worked out by the authors cysteine and proline can be separated, but in the same time the separation of glycine and alanine worsens and proline and glutamic acid become unseparable. Owing to the methodical problems mentioned above, the hydrolysis with MES—OH is not recommended by the authors for the determination of cystine.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ ЦИСТИНА В ФОРМЕ ЦИСТЕИНА В ФУРАЖЕ И ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТАХ. РЕДУКЦИЯ, КАК ИСТОЧНИК ПОГРЕШНОСТИ ПРИ ОПРЕДЕЛЕНИИ ЦИСТИНА

Я. Чапо и Ж. Чапонэ—Кисш

При гидролизе белков, проведенном меркапто-этан-сульфоновой кислотой (MES—OH), невозможно определить содержание цистина из-за редукции цистина в цистеин и возможного образования тио-эфирной связи между цистеином и MES—OH сульфогидрильной группой. Полученный в результате действия MES—OH цистеин, при определении с помощью ионнообменной колончатой хроматографии, появляется на хроматограмме на месте пролина и поэтому, в случае белков с большим содержанием цистина, это совпадение на хроматограмме приводит к неверным результатам определения пролина. Разработанный авторами метод дает возможность отделить цистеин от пролина, однако, при этом, одновременно ухудшается отделение глицина и аланина, и практически, пролин и глутаминовая кислота накладываются друг на друга. Из-за приведенных выше методических трудностей, авторы для определения цистина не рекомендуют гидролиз меркапто-этан-сульфоновой кислотой.

BESTIMMUNG DES CYSTINGEHALTES IN FUTTER-UND
LEBENSMITTELN IN FORM VON CYSTEIN; DIE REDUKTION ALS
FEHLERQUELLE DER CYSTINBESTIMMUNG

Csapó J. und Zs. Cs. Kiss

Bei der Eiweißhydrolyse mit Merkaptoethansulphonsäure (MES-OH) kann der Cystingehalt wegen der Reduktion des Cystin zu Cystein und wegen vermutlichen Entstehen einer Thioäther-Bindung zwischen Cystein und der Sulphydryl-Gruppe von MES-OH nicht bestimmt werden. Das durch MES-OH entstehende Cystein erscheint bei der Ionenaustauscher-Säulenchromatographie auf der Stelle von Prolin, und diese Vermischung verfälscht die Untersuchungsergebnisse für Prolin insbesondere bei Eiweißprodukten mit hohem Cystingehalt.

Mit der von Verfassern ausgearbeiteten Methode können Cytein und Prolin voneinander getrennt werden, aber damit gleichzeitig wird die Trennung von Glycin und Alanin schlechter sowie Prolin und Glutaminsäure werden praktisch vermischt. Wegen dieser methodischen Schwierigkeiten wird die Hydrolyse mit MES-OH für die Bestimmung von Cystin nicht empfohlen.

A SZERKESZTŐSÉGHEZ A KÖVETKEZŐ DOLGOZATOK ÉRKEZTEK

Buza Balázs: Mágneses magrezonancia spektroszkópia (NMR) alkalmazása élelmiszervizsgálatokban

Gábor Miklósné: A spektrofotometriás fehérjetartalom meghatározás alkalmazása új feltárási eljárással különböző húсок és húsipari termékek esetén

Horváthné Almássy Katalin: Újabb módszer fehérje PAGE ferrogramok ezüst színezésére

Ormainé Cserhalmi Zsuzsanna és Kucsora István: Fehérjealapú adalékanyagok emulziókapacitásának meghatározása

Korán Kornél és Gasztonyi Kálmán: Mesterséges élelmiszerszínezékek intenzív folyadékkromatográfiás (HPLC) elválasztása

Zalainé Fundák Rita, Soós Katalin és Gergely Anna: Hazai élővizekből származó halak összeshigany és metil-higany tartalmának vizsgálata

Szabó Erzsébet, Molnár Pál, Gólya Istvánné és Ács Pál: Érzékszervi körvizsgálat eredményei üdítőitaloknál