

Takarmányok és élelmiszerek aminosav-összetételének meghatározása különböző fehérjehidrolízis módszerekkel

CSAPÓ JÁNOS,
Mezőgazdasági Főiskola, Kaposvár
Érkezett: 1983. február 16.

1. Bevezetés

Az élettani, takarmányozási kutatások eredményei szerint nem helyes, ha csak gazdasági állataink fehérjeellátásáról beszélünk és nem vesszük figyelembe, hogy a takarmányban levő aminosavak meghatározott mennyiségére és arányára van szükség ahhoz, hogy az állat zavartalanul termeljen. A gyakorlat bizonyítja, hogy a hazai takarmányokból nagyon nehéz gazdasági állataink teljes értékű fehérjeellátását megoldani. A takarmányozási kutatások eredményei igazolják, hogy a takarmányadag kiegészítése szintetikus aminosavakkal hozamnövelő hatású, hogy az intenzívebben termelő állatfajták igénylik a magasabb biológiai értékű fehérjét a takarmányban. A biológiailag értékes takarmányokat elsődlegesen nem a fehérjetartalommal, hanem az aminosav-összetétellel és az aminosavak arányával jellemezhetjük. A takarmányfehérje aminosav-összetételének ismeretében kiszámolhatjuk a takarmányfehérje biológiai értékét, a limitáló aminosavak mennyiségét, az állatfajra esszenciális aminosav indexeket, s mindezek ismeretében javaslatot tehetünk a keveréktakarmányok gyártására, a limitáló aminosavak szintetikus úton történő pótlására.

Intézetünkben elsősorban Dél-Dunántúl, de egyre inkább az ország legkülönbözőbb részein levő gazdaságok vásárolt, illetve termelt takarmány alapanyagainak, takarmány kiegészítőinek, melléktermékeinek aminosav-összetételét vizsgáljuk. Az aminosav-összetétel ismeretében javaslatot teszünk a keveréktakarmány gyártásra, a limitáló aminosavak pótlására, a melléktermékek felhasználására. Az évi 800 – 900 db aminosav-vizsgálat arra ösztönzött bennünket, hogy vizsgáljuk meg azokat a hibalehetőségeket, amelyek kiküszöbölésével eredményeink még pontosabbakká, a gyakorlat számára jobban felhasználhatóakká válnak.

Takarmányok és élelmiszerek aminosav-összetételének meghatározásánál elkövetett hibák alapvetően a következők lehetnek:

- a mintavétel hibája,
- a minta hidrolízisének hibája,
- a minta elemzése során elkövetett műszertechnikai hibák,
- a kromatogramok értékelésénél elkövetett hibák.

Miután Moore és Stein (6) 1951-ben leközölték az aminosavak ioncserés oszlop-kromatografálásának módszerét, olyan intenzív kutatómunkát indítottak el, mely az elmúlt 30 év alatt szinte tökéletesre fejlesztette a kromatografálási technikát,

töredékére csökkentette a kromatografálási időt és nagyságrendekkel csökkentette az aminosavak kimutatható mennyiségét. A minta elemzése során bekövetkező mérés technikai hibák így minimálisra csökkentek. Amennyiben a mintavétel a szabványoknak megfelelően történik, a kromatogramok értékelését pedig nagy körültekintéssel, illetve integrátorral végzik, úgy az aminosav-analízis során elkövetett hibák alapvetően a minta hidrolízisének hibájára redukálhatók.

Hiába megfelelő a mintavétel, tökéletes a kromatografálási technika és a kiértékelés, a hidrolízisnél elkövetett hibákat már nem lehet korrigálni. A Moore és Stein (5) által javasolt 6 normál sósavval végzett hidrolízis mellett igen sok módszert dolgoztak ki a fehérjék hidrolízisére. Leírták a hidrolízis körülmények között lejátszódó bomlási és oxidációs veszteségek csökkentésének módját, módszereket dolgoztak ki a triptofántartalom meghatározására, valamint a kéntartalmú aminosavak oxidált állapotban történő meghatározására. A legtöbb szerző tiszta peptidokkal vagy tisztított fehérjékkel dolgozott. Módszerüket nagy szénhidráttartalmú anyagokkal vagy nem próbálták ki, vagy kipróbálás után nem kaptak megfelelő eredményeket.

Magyarországon sem szabvány, sem ajánlás nincs takarmányok és élelmiszerek aminosav-összetételének meghatározására. Hazánk különböző laboratóriumokban működő aminosav-analízátorokkal kapott eredmények csak akkor vethetők össze, ha azonos módszerrel történik a meghatározás. Kísérleteinkkel az irodalomból ismert számos hidrolízis módszer közül igyekeztünk kiválasztani azokat, amely a takarmányok és élelmiszerek vizsgálatára legalkalmasabbnak látszanak egy közepesen felszerelt laboratórium számára.

A különböző hidrolízis módszerek alkalmazásával szeretnénk volna eldönteni azt, hogy a hidrolízis hőmérséklete, a hidrolizátum feldolgozása, a szulfonsavak alkalmazása milyen mértékben befolyásolja a különböző fehérjetartalmú minták aminosav-összetételét különös tekintettel azok metionin, cisztein- és triptofántartalmára. Fenti hidrolízis módszereken kívül a minták ciszteintartalmát az általunk kidolgozott gyors módszerrel is meghatároztuk [Csapó és Wöller (1)] perhangyasavas oxidációt követően ciszteinsav formában.

2. Anyag és módszer

2.1. A vizsgált anyagok:

Egy aminosav vizsgáló laboratóriumban a vizsgálatra kerülő takarmányok és élelmiszerek összetételüket illetően nagyon sokfélék lehetnek. Hogy vizsgálataink kiterjedjenek mind a kis, mind a nagy nyersfehérje-tartalmú mintákra, a később ismertetésre kerülő módszerekkel meghatároztuk egy kukorica (nyersfehérje, a továbbiakban: ny.feh. = 9,5%), egy tejpor (ny.feh. = 35,4%), egy szójadara (ny.feh. = 48,6%) és egy húsliszt aminosav-összetételét (ny.feh. = 59,9%). A minták nyersfehérje-tartalmát a Kjeld-Foss gyorsnitrogén elemzővel határoztuk meg (a tejpor és a húsliszt esetében $N\% \times 6,38$, a kukorica és a szója esetében $N\% \times 6,25$).

2.2. Hidrolízis és a hidrolizátum feldolgozása:

A vizsgált mintákból — előzetes zsírtalanítás után — a nyersfehérje-tartalomtól függetlenül 100 mg-ot mértünk egy előzetesen króm kénsavval mosott 10 cm²-es orvosi ampullába. Mind a négy mintában az alábbi módszerekkel hidrolizáltuk el a fehérjét:

a) 6 normál sósavval végzett hidrolízis 24 órán át 105 °C-on. Az ampullába bemért mintához 2 cm³ 6 normál sósavat adtunk, szuszpendáltuk, majd fél óráig állni hagytuk. 1 csepp (kb. 40–50 mg) fenol hozzáadása után 8 cm³ 6 normál só-

savval az ampulla falára ragadt mintarészecskéket lemostuk, majd 5 percig végzett nitrogéneztetés után gázlángon leforrasztottuk. 24 órás 105 ± 3 °C-on végzett hidrolízis után az ampullákat hűtöttük, feltörtük, pH-értékét 4 normál nátrium-hidroxid-dal pH = 2,2-re állítottuk be, majd az egész anyagot 25 cm³-es mérőlombikba mostuk át pH = 2,2-es citrát-pufferral. A mintát Filtrak 388-as szűrőpapíron szűrtük, majd az aminosav-analizátorba történő betáplálásig -25 °C-on mélyhűtő-pultban tároltuk teflon edényekben.

b) 6 normál sósavval végzett hidrolízis 24 órán át 90 ± 3 °C-on. A hőmérséklet kivételével a módszer ugyanaz, mint az 1-es módszer esetében.

c) 6 normál sósavval végzett hidrolízis 24 órán át 120 ± 3 °C-on. A hőmérséklet kivételével a módszer ugyanaz, mint az 1-es módszer esetében.

d) 3 mólos para-toluol-szulfonsavval [0,2% triptamin (3-2)-aminoetil(-indol) tartalmú] végzett hidrolízis [Liu és Chang (3) módszere adaptálva laboratóriumunk lehetőségeihez] 24 órán át 105 ± 3 °C-on. A minta előkészítése és feldolgozása ugyanaz, mint az 1-es módszernél.

e) 3 mólos merkaptó-etán-szulfonsavval végzett hidrolízis 24 órán át 105 ± 3 °C-on [Penke, Ferenczy és Kovács (8) módszere adaptálva laboratóriumunk lehetőségeihez]. A minta előkészítése és feldolgozása ugyanaz, mint az 1-es módszernél.

f) 6 normál sósavval végzett hidrolízis 24 órán át 105 ± 3 °C-on. A hidrolízis ugyanaz, mint az 1-es módszernél, a minta feldolgozását pedig az alábbiak szerint végeztük. A lehűlt ampullákat feltörtük és tartalmukat bidesztillált vízzel 100 cm³-es gömblombikba mostuk át, majd rotációs gyorsbepárlón nitrogénatmoszférában szárazra pároltuk. A bepárlási maradékot 2×10 cm³ bidesztillált vízben feloldottuk, majd ismét szárazra pároltuk. A maradékot pH = 2,2-es citrát pufferben oldottuk fel, majd Filtrak 388-as szűrőpapíron szűrtük és -25 °C-on mélyhűtő-pultban tároltuk az aminosav-analizátorba történő betáplálásig.

g) 6 normál sósavval végzett hidrolízis 24 órán át 105 ± 3 °C-on. A feldolgozás ugyanaz, mint a 6-os módszernél, csak nitrogénatmoszféra helyett levegő atmoszférában történt a bepárlás rotációs gyorsbepárlón.

2.3. Analízis:

A minták aminosav-tartalmának meghatározását LKB 4101-es típusú automatikus aminosav-analizátorral végeztük MERCK gyártmányú aminosav kalibrációs standardot használva. Az ioncserélő oszlopra – megfelelő hígítás után – minden mintából kb. 50 nanomól aminosavnak megfelelő mennyiséget mértünk be, így a kukoricánál az eredeti törzsoldatból ötszörös, tejporból tizenötszörös, szójaból huszonötszörös, húslisztből harmincötszörös hígítást alkalmaztunk.

Az ioncserélőoszlop mérete:	500 × 6 mm
Az ioncserélő gyanta:	CHROMEX UA – 20-as
Puffer áramlási sebesség:	60 ml/óra
Ninhidrin áramlási sebesség:	30 ml/óra
Oszlop hőmérséklet:	60 percig 50 °C, majd az analízis végéig 70 °C,
Puffer A:	pH = 3,25; Na-normalitás = 0,2; 25 perc
Puffer B:	pH = 4,25; Na-normalitás = 0,2; 60 perc
Puffer C:	pH = 6,45; Na-normalitás = 1,2; 55 perc
nátrium-hidroxid:	0,4 normál; 15 perc
equilibrálás:	puffer A; 60 perc

A minták ciszteintartalmának meghatározását A pufferrel, triptofántartalmának meghatározását a pH = 6,0; nátrium normalitás = 1,5 pufferrel végeztük az előzőekben ismertetett paraméterek mellett.

2.4. A kromatogramok értékelése:

A minták egyes aminosavjainak mennyiségi kiértékelését a kromatogramon kapott csúcs alatti területnek ismert koncentrációjú aminosav standard csúcs alatti területéhez történő hasonlítással végeztük el. A területet megkaptuk, ha a csúcs magasságát szoroztuk a csúcs félmagasságánál mért szélességével.

3. Eredmények

3.1. A kukorica aminosav-összetétele:

A kukorica különböző hidrolízis-módszerekkel kapott aminosav-összetételét az 1. táblázat mutatja. A táblázatban csak az esszenciális aminosavakat és azok közül is csak azokat tüntettük fel, amelyekben legnagyobb a változás a hidrolízis-módszerek hatására. A kukorica lizintartalmára a legalacsonyabb értéket a 2. és 4. módszer adta, míg a kitermelés a többi módszernél jóval magasabb. A metionintartalomban nem volt lényeges eltérés a különböző hidrolízisek között. A cisztein mennyisége az alacsony hőmérsékleten (2.) és a nitrogén atmoszférában végzett bepárlásos (6.) módszernél a magasabb, míg az 5. módszernél a merkaptó-etán-szulfonsav szulfhidril csoportja és a cisztein szulfhidril-csoportja közti tio-éter kötés létrejötte miatt cisztein gyakorlatilag nem volt kimutatható. A valin és izoleucin esetében a magasabb kitermelést a 3., az alacsonyabbat a 2., 4., 5. módszer adott, míg az 1., 6. és 7. módszer gyakorlatilag azonosnak bizonyult. Leucinból az a 2., 4. és 5. módszerrel jóval alacsonyabb értéket kaptunk, mint az 1., 3., 6. és 7. módszerrel. Triptofán meghatározásra csak a 4. és 5. módszer alkalmas, az összes többinél nem volt értékelhető triptofáncsúcs a kromatogramon. (A ciszteinre az 5. módszernél és a triptofánra a 4. és 5. módszernél leírtak a tejporra, a szójára és a hüslisztre is vonatkoznak, ezekre a megállapításokra a továbbiakban már nem térünk ki.) Az aminosavak összes mennyisége a 3. módszernél a legnagyobb, a 2. és 4. módszernél igen kicsiny, míg a többi módszernél gyakorlatilag megegyezik.

3.2. A tejpor aminosav-összetétele:

A tejpor különböző hidrolízis-módszerekkel kapott aminosav-összetételét a 2. táblázat mutatja. A tejpor lizintartalma az 1., 3., 5. és 7. módszernél azonosnak adódott, míg 2., 4. és 5. módszernél kisebb a kitermelés lizinre, mint az előző módszereknél. A metionin esetében az 1. módszernél kaptuk a legnagyobb értéket, a 3., 6. és 7. módszer azonosnak adódott, míg a 2., 4. és 5. módszernél kaptuk a legkisebb kitermelést. A cisztein esetében a 3. módszerrel kaptuk a legkisebb értéket, míg a többi nem különbözött lényegesen egymástól. A valin, izoleucin és leucin esetében a legnagyobb értékeket a 3. módszernél kaptuk, kissé alacsonyabbat kaptunk az 1., 6. és 7. módszernél, míg a 2., 4. és 5. módszernél a kitermelés igen kicsiny volt. A valin, izoleucin és leucinra elmondottak érvényesek az aminosav-összegre is.

3.3. A szója aminosav-összetétele:

A szója különböző hidrolízismódszerekkel kapott aminosav-összetételét a 3. táblázat mutatja. A szója lizintartalma az 1. és 3. módszernél a legnagyobb, a 6. és 7. módszernél kissé alacsonyabb, míg a 2., 4. és 5. módszer igen kis kitermelést ad. Metioninra a 6. és 7. módszerrel kissé nagyobb értéket kaptunk, mint az 1., 2., 4. és 5. módszerrel, míg a 3. módszerrel kaptuk a legalacsonyabb értéket. Ciszteinre az 1., 3. és 6. módszerrel közel azonos értéket kaptunk, míg a 2., 4. és 7. módszerrel a kitermelés jóval kisebb. A valin, izoleucin, leucin és az aminosav-összeg esetén

A kukorica (n = 3) aminosav-összetétele gramm aminosav /100 g minta (A) és gramm aminosav/100 g fehérjében (B)

Aminosav	A hidrolízis módszere													
	1		2		3		4		5		6		7	
	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B
Lys	0,30	3,3	0,19	2,8	0,26	2,8	0,23	3,0	0,26	3,0	0,26	3,0	0,26	3,1
Met	0,15	1,7	0,12	1,7	0,18	1,9	0,13	1,7	0,15	1,7	0,15	1,7	0,14	1,7
Cys	0,10	1,1	0,09	1,3	0,04	0,4	0,07	0,9	0,00	0,0	0,14	1,6	0,09	1,1
Val	0,34	3,8	0,26	3,9	0,46	4,9	0,21	2,7	0,23	2,7	0,28	3,2	0,27	3,2
Ile	0,27	3,0	0,23	3,4	0,36	3,8	0,19	2,5	0,22	2,6	0,23	2,6	0,20	2,4
Leu	1,00	11,2	0,56	8,3	0,98	10,5	0,68	8,8	0,73	8,5	0,95	10,9	0,84	10,0
Trp	0,00	0,0	0,00	0,0	0,00	0,0	0,06	0,6	0,09	0,9	0,00	0,0	0,00	0,0
Aminosavössz.	8,96		6,74		9,30		7,70		8,57		8,71		8,39	
N % × 6,25		9,5		9,5		9,5		9,5		9,5		9,5		9,5
Száranyag		88,0		88,0		88,0		88,0		88,0		88,0		88,0

2 táblázat

A tejpor (n = 3) aminosav-összetétele gramm aminosav/100 g minta (A) és gramm aminosav/100 g fehérjében (B)

Aminosav	A hidrolízis módszere													
	1		2		3		4		5		6		7	
	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	B	B
Lys	2,63	8,2	1,87	8,2	2,79	7,3	1,77	7,6	1,86	7,7	2,46	7,7	2,62	8,1
Met	0,94	2,9	0,61	2,7	0,74	2,2	0,60	2,6	0,63	2,6	0,72	2,2	0,88	2,7
Cys	0,18	0,6	0,18	0,8	0,12	0,4	0,14	0,6	0,0	0,0	0,14	0,4	0,17	0,5
Val	1,64	5,1	0,61	2,7	1,71	5,1	0,61	2,6	0,66	2,7	1,30	4,1	1,66	5,1
Ile	1,20	3,7	0,50	2,2	1,70	5,1	0,61	2,6	0,86	3,6	1,02	3,2	1,05	3,2
Leu	2,92	9,1	1,90	8,3	2,93	8,7	1,89	8,2	2,08	8,6	2,75	8,6	2,80	8,6
Trp	0,00	0,0	0,00	0,0	0,00	0,00	0,23	1,0	0,29	1,2	0,00	0,0	0,00	0,0
Aminosavösszeg	32,11		22,85		33,52		23,15		24,08		32,09		32,41	
N % × 6,38		35,4		35,4		35,4		35,4		35,4		35,4		35,4
Száranyag		91,0		91,0		91,0		91,0		91,0		91,0		91,0

a legnagyobb értékeket a 3. módszernél kaptuk, kissé alacsonyabb értékeket kaptunk az 1., 6. és 7. módszernél, míg legkisebb volt a kitermelés a 2., 4. és 5. módszernél.

3.4. A húsliszt aminosav-összetétele:

A húsliszt különböző hidrolízismódszerekkel kapott aminosav-összetételét a 4. táblázat mutatja. A húsliszt lizintartalma az 1., 3., 5., 6. és 7. mintáknál azonosnak adódott, míg a 2. és 4. mintáknál a kitermelés jóval kisebb. A 6. és a 7. minták metionintartalma kissé nagyobbak adódott, mint az 1. és 3. mintánál, míg a 2., 4. és 5. mintáknál a kitermelés jóval kisebb. A ciszteinre legnagyobb értéket az 1. és a 6. módszernél kaptunk, a 3., 4. és 7. módszernél a kitermelés kisebb, míg a legkisebb a 4. módszernél. A valin, izoleucin, leucin és az aminosav-összeg esetében a legnagyobb értékeket a 3. módszernél kaptuk, kissé alacsonyabb értékeket kaptunk az 1., 5. és 7. módszernél, míg legkisebb volt a kitermelés a 2., 4. és 5. módszernél.

3.5. A kukorica, a tejpor, a szója és a húsliszt ciszteintartalma a vizsgált módszerekkel és perhangyasavas oxidációt követő gyorsított betáplálással meghatározva:

A kukorica, a tejpor, a szója és a húsliszt ciszteintartalmát – különböző módszerekkel mérve – az 5. táblázat tartalmazza. A táblázat adataiból kitűnik, hogy az oxidált formában történő meghatározás mind a négy anyag esetében, mintegy 25–50%-kal nagyobb ciszteinértékeket adott, mint a cisztein alakban történő meghatározás. Az 1. és a 6. módszer adta a legnagyobb kitermelést ciszteinre, míg a 2., 3., 4. és 7. módszer a ciszteinsav alakban történt meghatározás mennyiségének alig 50%-át adta. Az 5. módszerrel a tioéter kötés létrejötte miatt ciszteint a mintákból meghatározni nem tudtunk.

5. táblázat

A kukorica (n = 3), a tejpor (n = 3), a szója (n = 3) és a húsliszt (n = 3) különböző módszerekkel mért ciszteintartalma gramm aminosav/100 g mintában

Módszer	Ciszteintartalom				g.AS/100 g minta A négy minta átlaga	nem oxidált oxidált × 100
	Kukorica	Tejpor	Szója	Húsliszt		
1	0,10	0,18	0,56	0,80	0,41	72
2	0,09	0,18	0,34	0,49	0,28	49
3	0,04	0,12	0,52	0,59	0,32	56
4	0,07	0,14	0,34	0,58	0,28	49
5	0	0	0	0	0	0
6	0,14	0,14	0,54	0,66	0,37	65
7	0,09	0,17	0,32	0,52	0,28	49
Oxidált forma (n = 12) ...	0,17	0,30	0,88	0,92	0,57	100
N % × 6,25 ...	9,5		48,6			
N % × 6,38 ...		35,4		59,9		

3.6. A minták triptofántartalmának meghatározása:

A kukorica, a tejpor, a szója és a húsliszt különböző módszerekkel mért triptofántartalmát g. aminosav/100 g mintában a 6. táblázat mutatja. A táblázat adataiból kiderül, hogy sósavas hidrolízis hatására a minták triptofántartalma gyakorlatilag teljesen elbomlik. A 3 mólos merkaptó-etán-szulfonsavval végzett hidrolízis (5. módszer), mintegy 30–35%-kal magasabb triptofán értékeket ad, mint a 3 mólos para-toluol-szulfonsavas (0,2 % triptamin) 4. módszer.

A kukorica (n = 5), a tejpor (n = 5), a szója (n = 5) és a húsliszt (n = 5) különböző módszerekkel mért triptofántartalma gramm aminosav/100 g mintában

Módszer	Triptofántartalom g · AS/100 g minta				
	Kukorica	Tejpor	Szója	Húsliszt	A négy minta átlaga
1., 2., 3., 6., 7	0	0	0	0	0
4	0,06	0,23	0,31	0,34	0,24
5	0,09	0,29	0,44	0,56	0,35
N % × 6,25	9,5		48,6		
N % × 6,38		35,4		59,9	

4. Az eredmények megbeszélése

A fehérjék hidrolízise, a hidrolízis folyamán alkalmazott módszerek nagy mértékben befolyásolják az aminosav-analízis pontosságát. A legfontosabb befolyásoló tényező a hidrolizáló ágens, a hidrolízis ideje és a hidrolízis hőmérséklete. A hidrolízis idő némely aminosav meghatározását nem befolyásolja (glicin, prolin), némelyeknél a növekvő hidrolízis idő növekvő kitermelést ad (valin, izoleucin, leucin), némelyeknél pedig csökkenti a kitermelést (tirozin, fenilalanin, cisztein). A hidrolízis hőmérsékletének növekedése hatására a hidrolízisnek igen ellenálló valin-izoleucin, izoleucin-leucin kötések is felbomlanak, és ezeknél az aminosavaknál is nőni fog a kitermelés. Liu és Chang (4) a szulfonsavas hidrolíziseknél javasolta a 125 °C-ot a hidrolízisnek igen ellenálló kötések szétbontására. Igen jelentős pontosságot befolyásoló tényező az oxigén hiánya, amit egyrészt vákuumban történő hidrolízissel, másrészt nitrogén atmoszférában végezve lehet megvalósítani. A kén-tartalmú aminosavak (metionin, cisztein), számottevő veszteséget szenvedhetnek a hidrolízis során fellépő oxidáció következtében [Schram, Moore és Bigwood (10), Moor (5), Hirs (3), Dove és Freney (2)], másrészt a cisztein elbomolhat alanin-ná, szerinné, glicinné [Yoritaka és Ono (11)], valamint a metionin homocisztinné és homociszteinné [Osono és mtsai (8)]. A triptofán minimális mennyiségű szénhidrát jelenlétében gyakorlatilag teljesen lebomlik az indolgyűrű felhasadása következtében. Penke, Ferenczy és Kovács (9) 3 mólos merkaptó-etán-szulfonsavval, Liu és Chang (4) 3 mólos para-toluol-szulfonsavval végzett hidrolízisek után 90%-nál jobb kitermeléssel kapta vissza a triptofánt.

Az idézett szerzők peptidek, illetve tisztított fehérjék, aminosav-összetételét vizsgálták, vizsgálataik nem terjedtek ki a magas ásványianyag- és szénhidrát-tartalmú mintákra.

Kísérleteinkkel az volt a célunk, hogy az irodalomból közismert módszerek alkalmazhatóságát vizsgáljuk különböző takarmány-alapanyagokra. Vizsgáltuk a hidrolízis hőmérsékletének és a minta feldolgozás módjának befolyását az alapanyag aminosav-összetételére. Vizsgálataink alapján az alábbi megállapításokat tehetjük:

a) A 90 ± 3 °C-on 6 normál sósavval végzett hidrolízis (2. módszer), a 3 mólos para-toluol szulfonsavval (4. módszer) és a 3 mólos merkaptó-etán-szulfonsavval végzett hidrolízis (5. módszer), mind a 4 alapanyagnál csak mintegy 65–80%-os kitermelést adott az aminosavakra a 105 ± 3 , illetve 120 ± 3 °C-on végzett hidrolízisekhez viszonyítva.

b) A 105 ± 3 °C-on szulfonsavval és a 90 ± 3 °C-on 6 normál sósavval végzett hidrolíziskor a valin, izoleucin és leucin kitermelés igen kicsiny, mintegy 55–60%-a csak a 6 normál sósavval 105 , illetve 120 ± 3 °C-on végzett hidrolízisének.

c) A hidrolízis hőmérsékletének emelésével (120 ± 3 °C, a 3. módszer) nő az aminosavak összes mennyisége, nő a mintában a kimutatható valin, izoleucin és a leucin mennyisége, ezzel szemben erőteljesen csökken a cisztein mennyisége, míg a metionintartalom nem változik lényegesen.

d) A nitrogén atmoszférában bepárolt minták (6. módszer) kéntartalmú aminosav-tartalma mintegy 15–20%-kal nagyobb, mint a levegő atmoszférában bepárolt mintáké és nem különbözik lényegesen a neutralizált minták (1. módszer) kéntartalmú aminosav-tartalmától.

e) A minták ciszteintartalma a perhangyasavas oxidációt követő ciszteinsav formában történő meghatározáskor másfél-kétszer nagyobb volt, mint cisztein formában meghatározva.

f) Csak a szulfonsavas módszereknél kaptunk értékelhető eredményt triptofánra. A merkaptó-etán-szulfonsavas módszer (5.) mintegy 30%-kal nagyobb eredményeket adott, mint a para-toluol-szulfonsavas.

A fentiek alapján nyilvánvaló, hogy egyetlen hidrolízissel komplett és pontos aminosav-összetétel meghatározására nincs lehetőség. Triptofán meghatározására csak a szulfonsavas módszerek (közülük jobb a 3 mólos merkaptó-etán-szulfonsav) használhatók, ezek viszont nem használhatók az összes többi aminosav esetében. A 6 normál sósavval 105 ± 3 °C-on végzett hidrolízisnél nem találtunk lényeges különbséget a semlegesítéssel (1. módszer) és a nitrogén atmoszférában bepárolt (6. módszer) mintáinak aminosav-összetételében. Mivel a neutralizált 4 normál nátrium-hidroxiddal sokkal könnyebb elvégezni, mint nitrogén atmoszférában elpárologtatni a sósavat – annak ellenére, hogy növeli a minta nátrium-ion koncentrációját – nagyszámú minta gyors feldolgozására a neutralizálás mindenképpen előnyösebb. Mind a nitrogén atmoszférában történő bepárláskor, mind a neutralizáláskor számottevő ciszteinvesztés léphet fel az oxidált formában meghatározott ciszteintartalomhoz viszonyítva. Dove és Freney (2) adatait alátámasztva arra a megállapításra jutottunk, hogy míg a cisztein vesztés elérheti a 40–50%-ot is, a hidrolízis és feldolgozás körülményeinek betartásával a metioninvesztés elenyésző lehet.

A végzett vizsgálatok alapján javasoljuk takarmányok és élelmiszerek aminosav összetételének meghatározására a következő hidrolízis módszereket:

1. Az összes aminosav meghatározására a cisztein és a triptofán kivételével a 6 normál sósavval végzett hidrolízist 105 ± 3 °C-on (1. módszer).
2. Csak a ciszteintartalom meghatározására a Hirsh (3) által leírt perhangyasavas oxidációt követő feldolgozás után Csapó és Wöller (1) szerinti gyorsított betáplálást.
3. Triptofántartalom meghatározására a Penke, Ferenczy és Kovács (9) által kidolgozott 3 mólos merkaptó-etán-szulfonsavas módszert.

I R O D A L O M

- (1) Csapó, J. – Wöller, L.; Proc. 20th Hung. Annu. Meet. Biochem., Siófok (1980).
- (2) Dove, H. – Freney, I. R.; Aust. J. Dairy Techn. 34, 1, (1979).
- (3) Hirs, C. H. W.; J. Biol. Chem., 219, 611, (1956).
- (4) Liu, T. Y. – Chang, Y. H.; J. Biol. Chem., 246, 2842, (1971).
- (5) Moore, S.; J. Biol. Chem., 238, 235, (1963).
- (6) Moore, S. – Stein, W. H.; J. Biol. Chem., 211, 893, (1954).
- (7) Moore, S. – Stein, W. H.; J. Biol. Chem., 192, 663, (1951).
- (8) Osono, K. – Mukai, Y. – Tomimaga, F.; Nagasaki Iggakai Zassi, 39, 156, (1955).
- (9) Penke, B. – Ferenczy, R. – Kovács, K.; Anal. Biochem., 60, 45, (1970).
- (10) Schramm, E. – Moore, S. – Bigwood, B. Y.; J. Biol. Chem., 57, 33, (1954).
- (11) Yoritaka, T. – Ono, T.; Nagasaki Iggakai Zassi, 29, 400, (1954).

ОПРЕДЕЛЕНИЕ АМИНОКИСЛОТНОГО СОСТАВА ФУРАЖА И ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТОВ РАЗЛИЧНЫМИ МЕТОДАМИ БЕЛКОВОГО ГИДРОЛИЗА

Й. Чано

Авторы сравнивали, известные из литературы различные методы белкового гидролиза, для определения аминокислотного состава кукурузы, молочного порошка и сои. Для определения с соответствующей точностью комплектного аминокислотного состава пищевых продуктов и фуража, авторы предлагают применение гидролиза 6 нормальной соляной кислотой; для определения цистеина – ускоренную подачу (нагнетание), следующую за окислением муравьиной кислотой; для определения триптофана – метод трех молярной меркапто-этан-сульфоновой кислоты.

Аминокислотный состав анализируемых проб определяли аминокислотным анализатором типа: ЛКБ 4101.

BESTIMMUNG DER AMINOSAUREZUSAMMENSETZUNG DER FUTTERMITTEL UND LEBENSMITTEL MIT VERSCHIEDENEN PROTEINHYDROLYSE-METHODEN

J. Csapó

Die Verfasser verglichen die aus der Fachliteratur bekannten verschiedenen Proteinhydrolyse-Methoden bei der Bestimmung von Aminosäurezusammensetzung des Maises, Milchpulvers, Soja- und Fleischmehls. Sie empfehlen als entsprechend genaue Bestimmung der totalen Aminosäurezusammensetzung von Lebensmittel- und Futtermittelmustern die Hydrolyse mit 6 N Salzsäure, für die Cysteinbestimmung eine Schnellzuführung nach der Oxidierung mit Perameisensäure und für die Tryptophanbestimmung die Methode mit 3 M Merkapto-ethan-sulfonsäure.

Die Aminosäurezusammensetzung der untersuchten Proben wurde mit dem Aminosäureanalysator Typ. LKB 4101 bestimmt.

DETERMINATION OF AMINO ACID COMPOSITION OF FOODS AND FEEDS USING DIFFERENT METHODS OF PROTEIN HYDROLYSIS

J. Csapó

Different well-known methods of protein hydrolysis were compared in the determination of amino acid composition of maize, milk powder, soya and meat flour. For suitably accurate determination of complete amino acid composition of food and feed samples hydrolysis with 6N hydrochloric acid, for the determination of cysteine oxidation with performic acid followed by accelerated feeding and for the determination of tryptophan the method using 3 M mercapto-ethane-sulphonic acid are recommended.

The amino acid composition of the examined materials was determined with amino acid analyser type LKB 4101.

DOSAGE DE LA COMPOSITION D'ACIDES AMINÉS DES COMESTIBLES
ET DES FOURRAGES PAR DIVERSES MÉTHODES D'HYDROLYSE DES
PROTÉINES

J. Csapó

L'auteur fait entrer en comparaison des diverses méthodes d'hydrolyse des protéines pour le dosage de la composition d'acides aminés de maïs, poudre de lait, soja et farine de viande.

Il propose l'hydrolyse chlorhydrique (6 N HCl) pour le dosage précis de tous les acides aminés, l'alimentation accélérée après une oxydation avec l'acide per-formique (HCOOOH) pour le dosage de cysteine, et la méthode avec l'acide mercaptoéthane-sulfonique 3 mol, pour le dosage de triptophane.

La composition d'acides aminés des substances analysées a été déterminée par l'analysateur LKB 4101.

A szerkesztő bizottsághoz a következő dolgozatok érkeztek:

Szabó S. András és Szórád László: Élelmiszeripari kutatások eredményei IV. és V. Örsi Ferenc és Hollósy Judit: Tápszerek triptofán-tartalmának változása hőkezelés hatására

Polacsekné Rácz Mária és Kiss Ernő: Tejipari termékek cukorösszetételének vizsgálata enzimes analitikai módszerekkel

Teleki József: Adatok a sertéshús ivarszagának vizsgálatához

Korány Kornél és Gasztonyi Kálmán: Tartósítószeres intenzív folyadék-kromatográfiás meghatározása

Simonné Sarkadi Livia és Szerző Zsolt: Ciszteín meghatározási módszerek tanulmányozása

Örsi Ferenc és Ábrahámné Szabó Ágnes: Zsíroltható vitaminok meghatározása intenzív folyadék-kromatográfiával, I. Az A- és E-vitamin meghatározása

Örsi Ferenc és Ábrahámné Szabó Ágnes: EMQ és BHT antioxidánsok meghatározása intenzív folyadék-kromatográfiával