

# Szacharóz-, raffinóz- és sztachióztartalom meghatározása hüvelyekben

SENKÁLSZKYNÉ ÁKOS ÉVA, PETRES JOLÁN és CZUKOR BÁLINT

Központi Élelmiszeripari Kutató Intézet

Érkezett; 1984. február 9.

A hüvelyes magvak (bab, borsó, szója) tápanyagokban gazdag, nagy fehérje tartalmú, jó biológiai értékű élelmiszer-alapanyagaink közé tartoznak, mégis részarányuk a humán táplálkozásban térben és időben különböző. Részesedésük a táplálkozásban az USA-ban nagyobb, mint Európában, hazánkban az utóbbi 30 évben változó tendenciát mutatott. Fogyasztásukat kétségkívül olyan komponensek befolyásolhatják, amelyek kellemetlen utóhatást, ún. flatus-hatást okozhatnak különösen gyermekeknél, de arra érzékeny felnőtteknél is.

A szőjabab flatus-hatásáért felelős faktorainak szisztematikus kutatását STEGGERDA és munkatársai kezdték meg a 60-as években. Emberen és kutyán végzett kísérletekben kimutatták, hogy a bélsatorna alsó szakaszában levő mikroflóra hatására kis molekulatömegű oligoszacharidokból gázok ( $H_2$ ,  $CO_2$ ,  $CH_4$ ) fejlődnek [1, 2, 3,]. A mikroflóra szubsztrátumaként a táplálékban azok a szénhidrát-komponensei jöhetnek számításba, amelyek valamilyen oknál fogva az emésztőcsatornán érintetlenül haladtak végig. Ilyen szénhidrát-komponensek az  $\alpha$ -galaktozil-típusú oligoszacharidok (raffinóz, sztachióz, verbaszkóz), amelyek a bélsatorna  $\alpha$ -galaktozidáz enzimjének hiánya miatt a metabolizmusban nem vesznek részt [4, 5].

WAGNER és munkatársai [6], valamint REDDY és munkatársai [7] patkánykísérletben pozitív korrelációt mutattak ki a kísérleti állatok tápjának  $\alpha$ -galaktozil-típusú oligoszacharid tartalma és a szervezetben fejlődő hidrogén mennyisége között. A patkánykísérlet eredményeinek korrelációja a humán kísérletekkel (hidrogénfejlődés vonatkozásában) lehetőséget ad a gázfejlődés mértékének becslésre emberben [8].

Mivel az irodalmi adatok egyértelműen arra utalnak, hogy az  $\alpha$ -galaktozil-típusú oligoszacharidok a flatus-hatásért felelősek, ezért indokolt az ilyen típusú vegyületek mennyiségének megbízható, egyszerű meghatározása egyes élelmiszerek alapanyagaikban összehasonlítás és minősítés céljából, a megfelelő felhasználás érdekében.

A raffinóz, a sztachióz és a verbaszkóz meghatározására számos módszer található a szakirodalomban. DELENTE és LADENBURG [9] gázkromatográfiával, KIM és munkatársai [10] folyadékkromatográfiával, HAVEL és munkatársai [11] nagynyomású folyadékkromatográfiával határozták meg a különböző szójakészítmények oligoszacharid tartalmát.

A legkorszerűbb műszeres analitikai eljárások mellett az oligoszacharidok elválasztására vékonyréteggromatográfiás módszerek is ismeretesek, amelyek a

futtatószer, az előhívás és a vékonyréteg minőségében különböznek egymástól [12, 13, 14, 15], vagy oszlopkromatográfiás elválasztással vannak kombinálva [16]. Az eljárások közel azonos értékűek, s alkalmazásuk a műszerezettség alap, a meghatározások időigényének és jellegének (kutatás, rutinvizsgálat) a függvénye.

TANAKA és munkatársai [17] vékonyrétegekromatográfiás elválasztást spektrofotométeres mennyiségi meghatározással kombinálva, kvantitatív módszert dolgoztak ki a hüvelyes magvak szacharóz-, raffinóz- és sztachióztartalmának meghatározására. Eljárásuk lényege, hogy az egységes szemcseméretre előkészített mintából 80%-os etanolal vontak ki az oligoszacharidokat, melyeket n-propanol : etilacetát : víz (6 : 1 : 3) arányú elegyben cellulóz vékonyrétegen választottak szét. Az elválasztott anyagokat megfelelő kimutatás után a réteg anyagával együtt a lemezről eltávolították és desztillált vízzel az oligoszacharidokat leoldották, majd a tiobarbitursavval sósavas közegben képződött sárga színű reakcióelegy fényelnyelését 432,5 nm-en spektrofotométerrel mérték. A mennyiségi kiértékelést megfelelő standardok segítségével végezték.

Az irodalomból ismeretes módszerek korszerűsége vitathatatlan, de műszer- és vegyszerigényük miatt alkalmazásuk korlátozott. Ezért célunk olyan egyszerű módszer kidolgozása volt, amellyel a hüvelyesek  $\alpha$ -galaktozil-típusú oligoszacharidjai elválaszthatók és mennyiségük meghatározható.

Eljárásunk lényege, hogy a zsírtalanított, azonos szemcseméretűre előkészített mintából vizes etanolal kivonjuk az oligoszacharidokat, majd a megfelelő töménységre bepárolt oldatból vékonyrétegekromatográfiával választjuk szét a komponenseket. A szétválasztott anyagokat módosított  $\alpha$ -naftol reagenssel [18] előhívjuk és a mennyiségi kiértékelést standardok alkalmazásával denzitométerrel végezzük el.

A kidolgozott módszerünkkel egyszerűsítettük a TANAKA módszernél több fázisból álló meghatározást, nevezetesen elhagyhattuk az elválasztott anyagoknak a vékonyrétegről történő eltávolítását és eluálását, a színreakció képzését és az azt követő fotometráliát. A kidolgozott módszerrel a hüvelyesek raffinóz-, sztachióz- és szacharóz tartalma gyorsan, kevés eszközígénnel 10–20%-os relatív hibával határozható meg.

Jelen közleményünkben az elvégzett vizsgálatok alapján kialakult módszert ismertetjük, néhány szójakészítmény és sárgaborsóliszt oligoszacharid tartalmának meghatározásával.

### Anyagok

Vékonyréteg: Macherey – Nagel (NSZK) gyártmányú, 20×20 cm nagyságú Polygram Cel 300-as kész réteglap

Elválasztó elegy: n-propilalkohol : etilacetát : víz = 6 : 1 : 3 arányú elegye

Előhívó reagens: 1 g  $\alpha$ -naftol 100 cm<sup>3</sup> vízmentes etanolos oldatához 10 cm<sup>3</sup> cc. foszforsavat adunk

Standard oldatok: szacharóz, raffinóz, sztachióz 10 mg/cm<sup>3</sup> töménységű vizes oldata.

### Az eljárás leírása

A vizsgálandó mintákat Soxhlet módszerrel 40–60 °C forráspontú petroléterrel 12 órán át tartó zsírtalanítás után azonos szemcseméretűre őröljük (0,125 mm), így használjuk az analízishez. 5 g előkészített mintát 50 cm<sup>3</sup> 80%-os etanolban szuszpendálunk, a szuszpenziót vízfürdőn refluxáljuk 1 órán át, majd centrifugálásal elválasztjuk az alkoholos oldatot az üledéktől (15 percig, 5000/perc fordulatszámmal T 52 típusú centrifugán). Az alkoholos oldatot gyűjtőedénybe öntjük, az üledéket pedig 50 cm<sup>3</sup> desztillált vízben szuszpendálva 30 percig kevertetjük mágneses keverőn.



A vizes oldatot az előzőekben leírt paraméterek szerinti centrifugálással elválasztva összegyűjtjük, az üledéket újabb 50 cm<sup>3</sup> desztillált vízzel szuszpendáljuk. A szuszpenziót újabb centrifugálással szétválasztjuk. Az egyesített felülúszó oldatokat Whatman No 1. szűrőpapíron átszűrjük, majd Rotadszt készüléken 50 °C alatti hőmérsékleten bepároljuk, pontosan lemért (kb. 25 cm<sup>3</sup>) térfogatra.

#### Vékonyrétegekromatográfiás elválasztás

A kivonatokból Hamilton fecskendővel 5  $\mu$ l-t, a standard oldatokból a következő mennyiségeket vittük fel a lemezre: szacharóz 5  $\mu$ l, sztachióz 4  $\mu$ l, raffinóz 1  $\mu$ l. A komponensek elválasztását n-propanol : etilacetát : víz- 6 : 1 : 3 arányú elegyben szobahőmérsékleten végezzük.

Az elválasztott komponensek a módosított  $\alpha$ -naftol reagenssel egyenletesen bepermetezett lemez 10 percig 100 °C-on való hevítése után lila színnel jelennek meg, világos háttéren.

#### Mennyiségi meghatározás

A vékonyrétegen elválasztott és kimutatott oligoszacharidok mennyiségét a standard anyagok segítségével videodenzitométeres méréssel határozzuk meg. A denzitométer típusa: Telechrom OE-976.

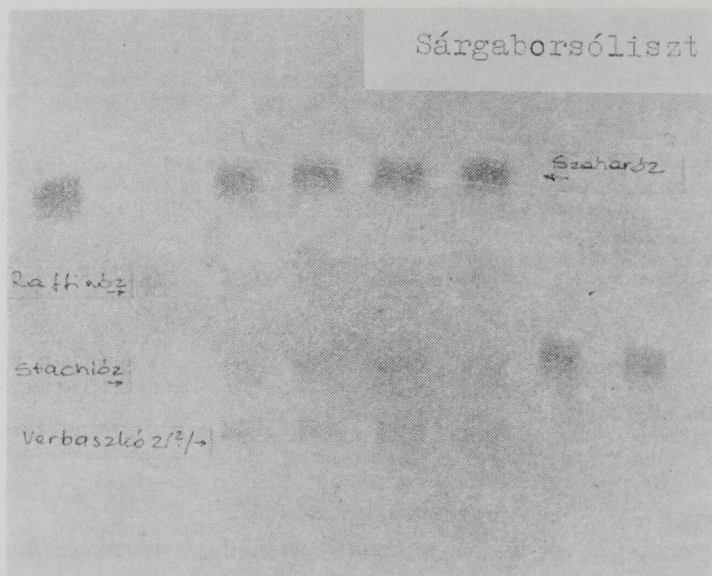
Mintánként három párhuzamosan készített kivonatból végeztünk három-három vékonyrétegekromatográfiás meghatározást.

#### Eredmények, következtetések

Az oligoszacharidok elválasztását a vékonyrétegen az 1. és 2. ábrán mutatjuk be. Az 1. ábra ireszemcei szójabab mintából, a 2. ábra sárgaborsólisztból készült kivonat kromatogramját mutatja be.



1. ábra  
Szójabab kromatogramja



2. ábra  
Sárgaborsóliszt kromatogramja

1. táblázat

Szójabab és szójakészítmények, valamint sárgaborsóliszt raffinóz-, sztachióz- és szacharóz-tartalma

| A minta megnevezése, eredete  | Raffinóz-                               | Sztachióz-                 | Szacharóz-                |
|---|---|----------------------------|---------------------------|
|   | tartalom                                |                            |                           |
|   | g/100g minta ( $\bar{x} \pm s$ , n = 9) |                            |                           |
| Irgeszemcei szójabab<br>Iregi szójaarany<br>(Irgeszemcei Takarmányter-<br>mesztési Kut. Int.) | 0,45 ± 0,11<br>nyomokban                | 4,08 ± 0,78<br>2,00 ± 0,36 | 5,58 ± 0,5<br>4,12 ± 0,17 |
| Szójabab (Kisújszállás)   | nyomokban                               | 3,37 ± 0,43                | 8,0 ± 0,32                |
| Teljes olajtartalmú szójaliszt<br>(Törökszentmiklós)  | 0,35 ± 0,08                             | 4,25 ± 0,44                | 5,7 ± 0,29                |
| Szójagranulátum, Textured<br>Vegetable Protein. (TVP)<br>ADM (Anglia) gyártmány               | 0,5 ± 0,09                              | 5,16 ± 0,5                 | 6,75 ± 0,45               |
| Szójagriz<br>Farmland (USA) gyártmány   | 0,51 ± 0,14                             | 6,54 ± 0,9                 | 6,8 ± 0,3                 |
| Sárgaborsóliszt<br>(1981 termésből)   | 0,46 ± 0,05                             | 2,59 ± 0,37                | 3,3 ± 0,16                |



A képeken látható, hogy a szacharóz a legnagyobb  $R_f$  értékű komponens, kisebb  $R_f$  értéknél a raffinóz, és a legkisebb  $R_f$  értéknél a sztachióz mutatható ki. Az  $R_f$  értékek számszerűen 0,5; 0,4, és 0,3, körüli értékek.

A sárgaborsólisztből készült kivonat kromatogramján jól látható még egy intenzív folt megjelenése, amelyet standard anyag hiányában azonosítani és mennyiségét meghatározni nem tudtuk. Feltehetőleg ez az anyag verbaszkóz, mely egyes szójaminták komponensei között is nyomokban megjelenik.

A képeken látható, hogy mind a szójában, mind a sárgaborsóban a raffinóz a sztachiózhoz és a szacharózhoz viszonyítva lényegesen kevesebb.

A vizsgált minták oligoszacharid tartalmát az 1. táblázatban foglaltuk össze.

A táblázatban közölt sztachióz, raffinóz és szacharóz tartalom adatok a zsírtalan minták szárazanyag-tartalmára vonatkoznak. A szórás értékek esetenként 20% felettinek adódtak a raffinóz kimutatása esetében, ami a raffinóz kis koncentrációjából és ezáltal az analitikai eljárás nehézségeiből adódhat.

Mérési adataink szerint a szójamintákban 3–8% szacharóz található. A flatus hatásért felelősek tartott oligoszacharidok közül sztachióz 2–6%-ban, raffinóz 0–0,5%-ban fordul elő.

Amikor az Iregszemcsei Takarmánytermesztési Kutató Intézet által gyártott Iregi szójaaranyat mint készterméket vizsgáltuk, módunkban volt az előállításához használt alapanyagot, az iregi szójababot is megvizsgálni. Az eredményeink alapján megállapítható, hogy a késztermék lényegesen kisebb koncentrációban tartalmaz sztachiózt és szacharózt mint a nyers szójabab. A szignifikancia számítást a próbával végeztük el.

Eredménye a következő:

|                                |                   |         |
|--------------------------------|-------------------|---------|
| szachióz: $t_s$ szám = 7,2626  | $t_p$ 0,1% = 4,02 | FG = 16 |
| szacharóz: $t_s$ szám = 8,2955 | $t_p$ 0,1% = 4,02 | FG = 16 |

Raffinóz a késztermékben már csak nyomokban található.

Végezetül megállapíthatjuk, hogy az általunk kidolgozott módszer gyors, egyszerű, a sorozatmeghatározások alkalmasak a raffinóz, sztachióz és szacharóz kimutatására hüvelyesekben.

## I R O D A L O M

- (1) Steggerda, F. R.; Proceedings of International Conference on Soybean Protein Food. 1966–67, 94–99 Peoria, Illinois.
- (2) Richards, E. A., Steggerda, F. R., Murata, A.; Gastroenterology 55, 502, (1968)
- (3) Rackis, J. J., Sessa, D. J., Steggerda, F. R., Shimuzu, T., Anderson, J. and Pearl, S. L.; J. Food Sci. 35, 634, (1970)
- (4) Rackis, J. J.; Physiological effects of Food Carbohydrates (ed.: A: Jeanes and J. Hodge) Amer. Chem. Soc. Washington, D. C., 1975
- (5) Cristofaro, E., Mottu, F. and Wuhrmann, J. J.; Cereal Science Today 17, 274 (1972)
- (6) Wagner, J. R., Becker, R., Gumbmann, M. R. and Olson, A. C.; J. Nutr. 106, 466 (1976)
- (7) Reddy, N. R., Salunkhe, D. K., Sharma, R. P.; J. Food Sci. 45, 1161 (1980)
- (8) Wagner, J. R., Carson, J. F., Becker, R., Gumbmann, M. R. and Danhof, I. E.; J. Nutr. 107, 680 (1977)
- (9) Delente, J., Ladenburg, K.; J. Food. Sci. 37, 372 (1972)
- (10) Kim, W. J., Smit, C. J. B. and Nakayama, T. O. M.; Lebensm. – Wiss. u. Technol. 6, 201 (1973)
- (11) Havel, E., Tweeten, T., Seib, P., Wetzel, D., Liang, Y. and Smith, O.; J. Food. Sci. 42, 666 (1977)
- (12) Täufel, K., Steinbach, K. J. and Vogel, E.; Z. Lebensm. Unters. Forsch, 31, 112 (1960)
- (13) Adachi, S.; J. Chromatography 17, 295, (1965)
- (14) Jacin, H., Mishkin, A. R.; J. Chromatography 18, 170, (1965)
- (15) Stefanis, V. A., Ponte, J. G.; J. Chromatography, 34, 116, (1968)
- (16) Cerning-Beroard, J., Filiate, A.; Cereal. Chem. 53, 968, (1976)
- (17) Tanaka, M., Thananunkul, D., Lee, T. C., and Chichester, C. O.; J. Food. Sci. 40, 1087, (1975)
- (18) Albon, N. and Gross, D.; Analyst 75, 454, (1950)

## ОПРЕДЕЛЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ САХАРОЗЫ, РАФФИНОЗЫ И СТАХИОЗЫ В БОБОВЫХ РАСТЕНИЯХ

*Е. Сенкальски — Акош, Й. Петреш, Б. Сукор*

Авторы ознакомили с разработанным методом для выявления и определения содержания олигосахаридов типа  $\alpha$ -галактозы в бобовых растениях.

Принцип метода заключается в том, что количество разделенных олигосахаридов определяют видеоденситометрическим методом после соответствующей подготовки анализируемых проб, из водно-спиртового экстракта с помощью тонкослойной хроматографии (на пластинках CEL 300, подвижная смесь растворителей: *n*-пропанол-этилацетат-вода в соотношении 6 : 1 : 3, проявление фосфорнокислым  $\alpha$ -нафтол реагентом).

Разработанным методом можно быстро определить содержания раффинозы, стахиозы и сахарозы в бобовых растениях с помощью применения минимального количества необходимой для определения аппаратуры и с относительной погрешностью, составляющей 10–20%.

## DETERMINATION OF THE CONTENTS OF SUCROSE, RAFFINOSE AND STACHYOSE IN LEGUMINOUS PLANTS

*É. Senkálzsky — Ákos, J. Petres and B. Czukor*

The method developed by the authors for the detection and determination of the oligosaccharide content of  $\alpha$ -galactosyl type in leguminous plants is described.

The essence of the method is the determination of the amount of oligosaccharides by a measurement with the videodensitometer after their separation by thin-layer chromatography (running on a layer sheet Poligram CEL 300 in a mixture of 6 : 1 : 3 of *n*-propanol:ethyl acetate: water, and developed with a phosphoric acid  $\alpha$ -naphthol reagent) from the aqueous-ethanolic extract of the adequately prepared sample. On using the method developed by the authors it is possible to determine the raffinose, stachyose and sucrose content of leguminous plants quickly and with only a few instruments at a relative error of 10 to 20%.

## BESTIMMUNG DES SACCHAROSE-, RAFFINOSE- UND STACHYOSEGEHALTES IN HÜLSENFRÜCHTEN

*É. Senkálzsky — Ákos, J. Petres und B. Czukor*

Die zum Nachweis und Bestimmung des Oligosaccharidgehaltes vom  $\alpha$ -Galactosyltyp in Hülsenfrüchten entwickelte Methode wird von den Verfassern beschrieben.

Die Methode besteht wesentlich darin, dass man die Menge der vom wässrigem-äthanolischen Extrakt des entsprechend vorbereiteten Musters mittels Dünnschichtchromatographie (Laufenlassen auf einem Poligram CEL 300 Schichtenblatt in einem 6 : 1 : 3 Gemisch von *n*-Propanol: Äthylacetat: Wasser, und entwickelt mit einem phosphorsaurem  $\alpha$ -Naphthol Reagent) abgetrennten Oligosacchariden mittels einer Messung mit einem Videodensimeter bestimmt. Mit der entwickelten Methode ist in Hülsenfrüchten der Gehalt an Raffinose, Stachyose und Saccharose schnell, mit wenigen Instrumenten und mit einem relativen Fehler von 10–20% bestimmbar.

## LE DOSAGE DE LA TENEUR EN SACCHAROSE, RAFFINOSE ET STACCHIOSE DANS LES LÉGUMINEUSES

*É. Senkálzsky – Ákos, J. Petres et B. Czukor*

Les auteurs font connaître une méthode élaborée pour la détection et la détermination de la teneur d'oligosaccharides de type  $\alpha$ -galactosile des légumineuses. L'essence de la méthode est une extraction aqueuse-alcoolique, une séparation par chromatographie sur couche mince (Poligram CEL 300; dissolvants sont: n-propanol (éther acétique/eau 6:1:3; développement avec  $\alpha$ -naphтол/ácide phosphorique/ et une détection par vidéodensitométrie.

Avec cette méthode élaborée on peut analyser vite la teneur en raffinose, stacchiose et saccharose des légumineuses; il n'est pas besoin de beaucoup d'instruments. La précision relative de la méthode est 10–20%.