

Diasztáz enzim aktivitás mérési bizonytalanságának felülvizsgálata mézekben



Előadó: Gál Anikó, BME, Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudományi Tanszék

Balázs Gábor, WESSLING Hungary Kft.

Dr. Tömösközi Sándor, egyetemi docens, BME, Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudományi Tanszék

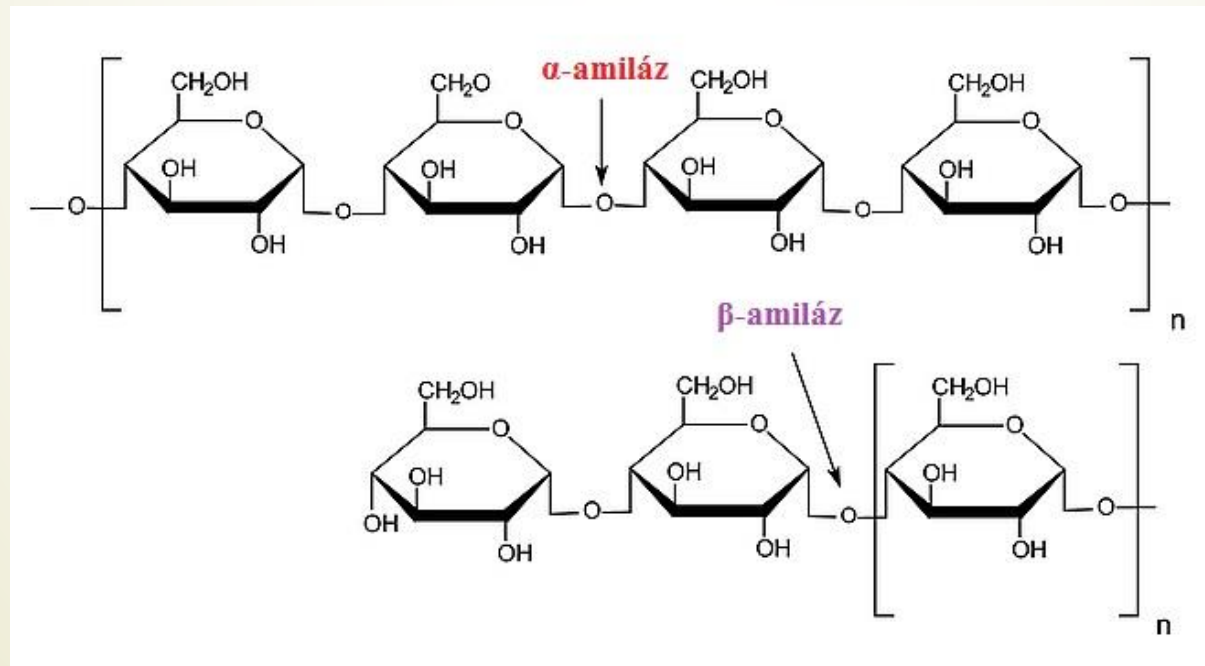
Budapest, 2019.04.25.

A mézben vizsgált legfontosabb paraméterek (Magyar Élelmiszerkönyv 1-3-2001/110 számú előírás)

- Fruktóz- és glükóztartalom
- Szacharóztartalom
- Nedvességtartalom
- Vízben oldhatatlan szilárdanyag-tartalom
- Elektromos vezetőképesség
- Savfok
- **Diasztáz enzim aktivitás**
- Hidroxi-metil-furfural (HMF)-tartalom

Diasztáz enzim a mézben 1.

- ▶ α - és β -amiláz enzimek keveréke, amely a méhek garatmirigy váladékából kerül a mézbe
- ▶ α -amiláz: a keményítő láncközi α -1,4-glikozidos kötéseit bontja
- ▶ β -amiláz: maltóz egységeket hasít a keményítő nem redukáló végéről



Diasztáz enzim aktivitását befolyásoló tényezők

- ▶ Növényi eredet
- ▶ Feldolgozási technológia
- ▶ A késztermék tárolási ideje és a tárolás körülményei (minőségmegőrzési idő)
- ▶ Mátrixhatás (inhibítorok, pH stb.)

Diasztáz enzim a mézben 2.

➤ Diasztáz szám (DN) vagy Gothe szám: az az enzim mennyiség, amely 0,01 g keményítő egy adott végpontig történő lebontásához szükséges, $T=40\text{ °C}$ -on, 1 óra alatt. Eredmény: Gothe szám/g méz

➤ Előírások:

Alsó határérték DN = 8, természetesen alacsony enzimtartalmú mézek esetében (pl: citrusméz) és legfeljebb 15 mg/kg HMF (hidroximetil-furfural) tartalmú mézeknél DN = 3 (Codex Alimentarius Hungaricus 1-3-2001/110 számú irányelv, Európai Unió Tanácsa 2001/110/EK számú irányelv, MSZ 6943-6:1981)

➤ Alacsony diasztázaktivitás feldolgozáskor történő túlzott felmelegítésre, nem megfelelő tárolásra vagy hamisításra utalhat

➤ **A diasztáz aktivitás mérése kulcsfontosságú a méz hamisítatlanságának és frissességének igazolásához!**

Diasztáz enzim aktivitás meghatározására alkalmazott módszerek

IHC (International Honey Commission) kétféle validált mérési módszert ír elő a diasztáz enzim aktivitásának mérésére:

1. Schade-módszer
2. Phadebas-módszer

Alkalmazott analitikai módszerek diasztáz enzim aktivitásának mérésére: Schade-módszer

Adott koncentrációjú keményítőoldat reagáltatása az enzimmal



Adott időközönként mintavétel a reakcióelegyből és reagáltatása jód-oldattal



Keményítő-jód komplex abszorbanciájának mérése 660 nm-en



Abszorbancia-idő függvény, egyenes illesztés



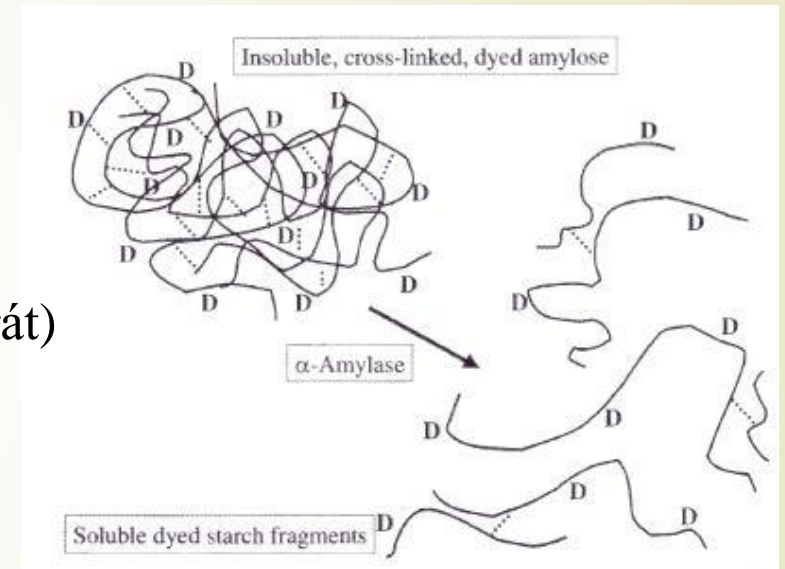
A=0,235 értékhez tartozó t_x idő leolvasás

$$DN = \frac{60 \text{ perc}}{t_x} * \frac{0,1}{0,01} * \frac{1,0}{2,0} = \frac{300}{t_x}$$

Alkalmazott analitikai módszerek diasztáz enzim aktivitásának mérésére: Phadebas-módszer 1.

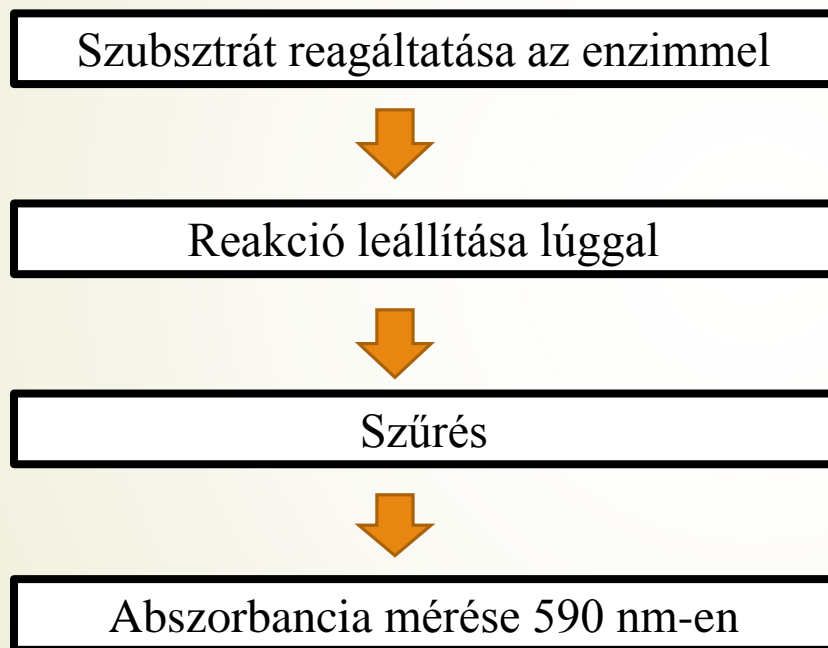
▶ Előnyök:

- egységes szubsztrát alkalmazása:
láncvégükön kék színanyagot tartalmazó
keresztköötött amilóz (vízoldhatatlan kromogén szubsztrát)
- gyorsabb mintaelőkészítés
- nagyobb mintamennyiség mérhető egyszerre
- egyszerűbb mérési elv



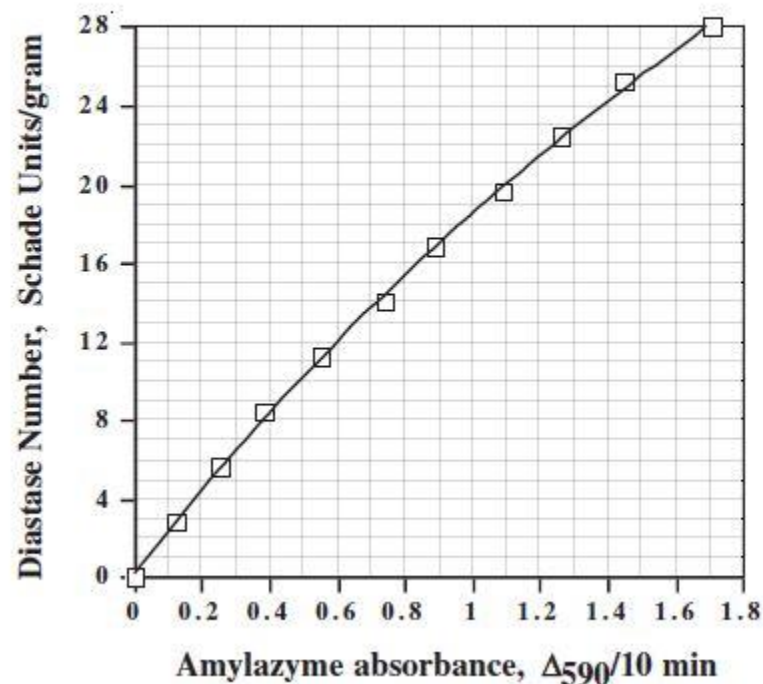
1. ábra: A kromogén szubsztrát fragmenumainak oldatba kerülése az enzimes bontás után

Alkalmazott analitikai módszerek diasztáz enzim aktivitásának mérésére: Phadebas-módszer 2.



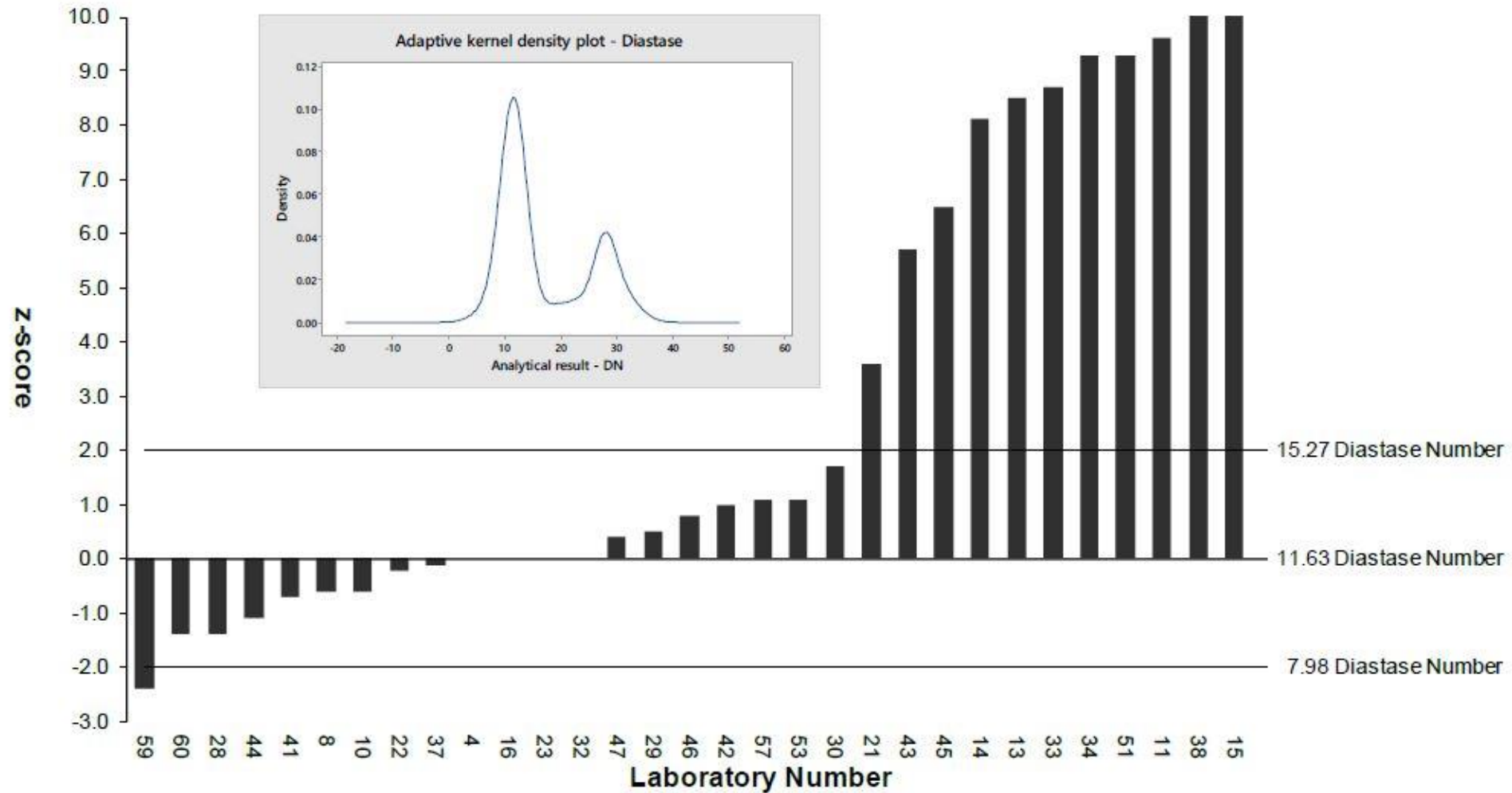
$$DN = 21,2 * \Delta_{590} + 0,27 - 2,9 * \Delta_{590}^2$$

$$\text{Schade Units/g} = + (21.2 \times \Delta_{590}) + 0.268 - (2.9 \times \Delta_{590}^2)$$



α -amiláz enzim mérésére specifikus!

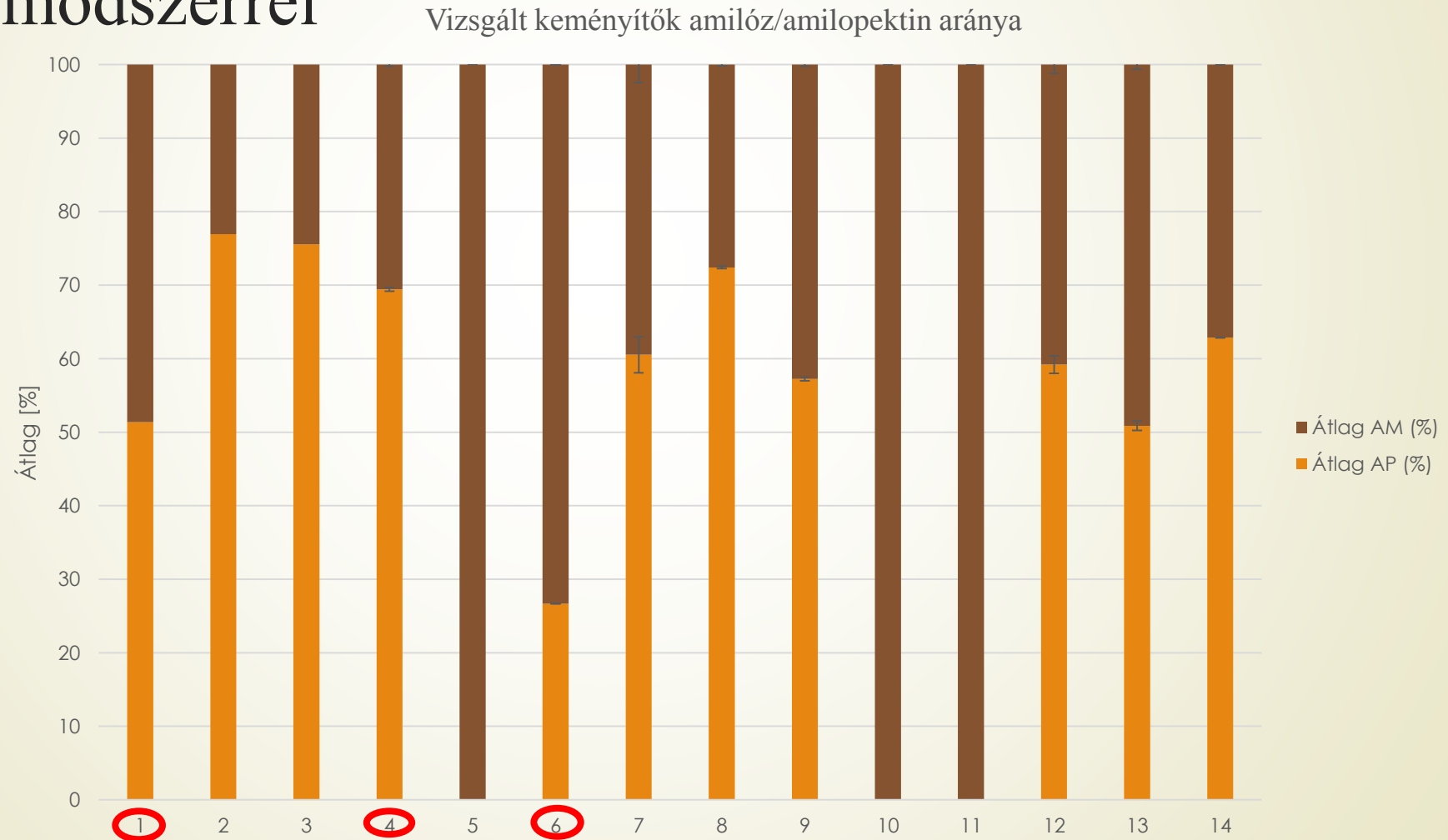
Nemzetközi körvizsgálat eredményei



Célkitűzések

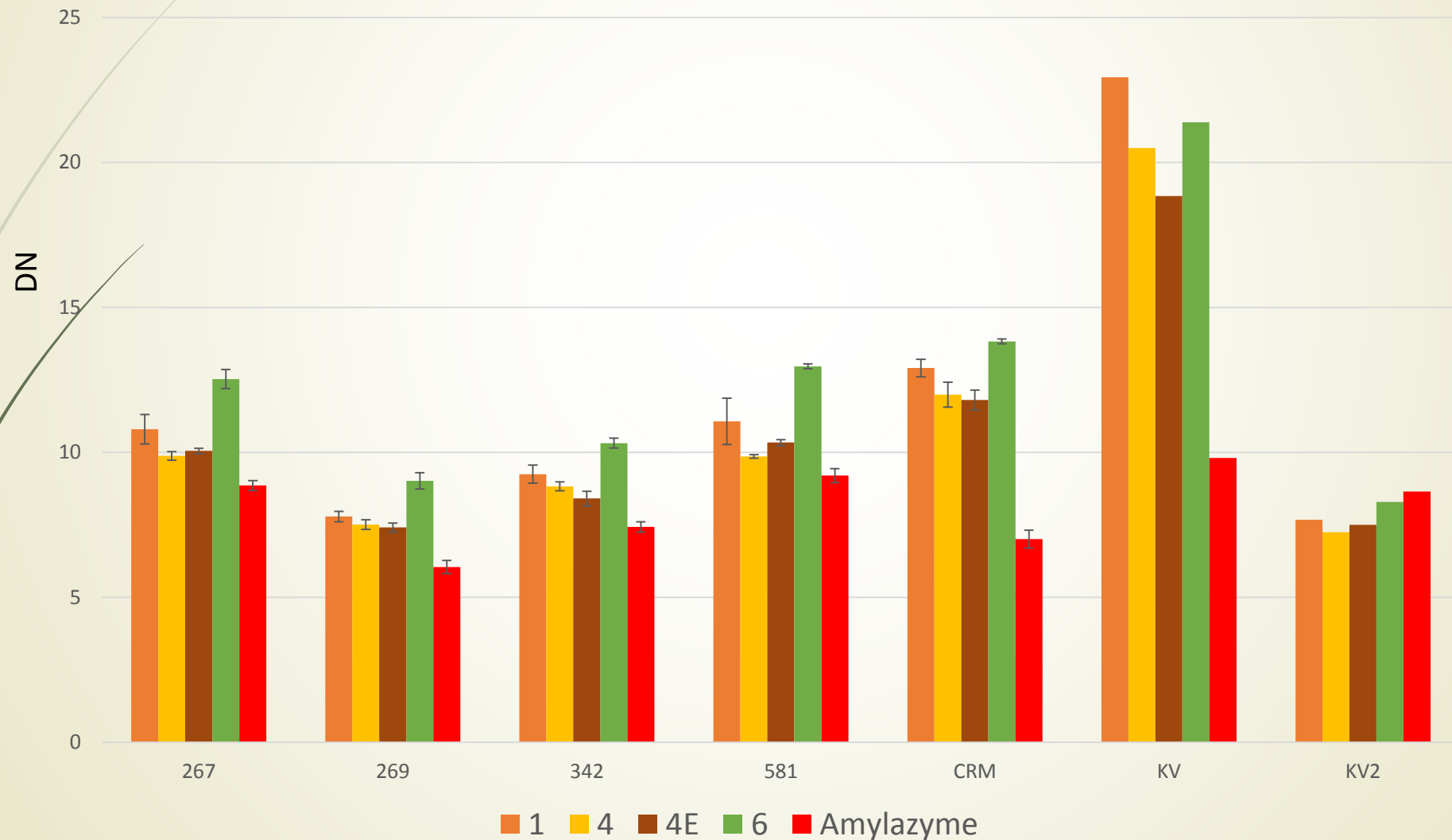
- ▶ Különböző forrásból származó keményítők amilóz/amilopektin arányának, és közelítő molekulatömegük meghatározása SE-HPLC módszerrel
- ▶ Különböző forrásból származó keményítők hatásának vizsgálata a Schade-módszer mérési eredményeire
- ▶ Hazai laborral történő összemérés a diasztáz aktivitás meghatározásának tekintetében
- ▶ Schade-módszer és a Phadebas-módszer analitikai teljesítményjellemzőinek vizsgálata

Különböző forrásból származó keményítők amilóz/amilopektin arányának vizsgálata SE-HPLC módszerrel



A Schade-módszer és a Phadebas-módszer mérési eredményeinek összehasonlítása

Diasztáz szám a különböző keményítők függvényében



További tervek

- ▶ A Schade-módszer és a Phadebas-módszer analitikai teljesítményjellemzőinek vizsgálata
- ▶ Hazai laborral történő összemérés

Köszönöm a megtisztelő figyelmet!