

A hidroxilizin meghatározása. A hidroxilizin exponens

BÁLINT MIHÁLY

Megyei Élelmiszerellenőrző és Vegyvizsgáló Intézet, Zalaegerszeg

Érkezett: 1977. szeptember 7.

A kollagén anyagcseréjénél a prolin hidroxiprolinná alakulásával egyidejűleg a lizinmaradékok hidroxilálódásának eredményeként másik hidroxiaminosav is képződik, a hidroxilizin.

A kollagének természetének jobb megismerése, illetve jelentősebb fajspecifitás feltárása érdekében a hidroxilizin meghatározása is jelentőségre tehet szert.

A hidroxilizin egyszerű meghatározására sokáig nem volt a hidroxiprolin meghatározásához hasonlóan gyorsan kivitelezhető fotometriás módszer.

A hidroxilizint az irodalomból ismert *Blumenkrantz – Asboe-Hansen* módszerével határoztuk meg (1).

A reakció típusát tekintve hasonlóan tekinthető, mint a hidroxiprolin meghatározása. A reakció teljes lefutása itt sem várható, és egyensúlyi reakcióról beszélhetünk, ami a gondosan megválasztott és végrehajtott eljárás esetén megbízható és reprodukálható eredményt szolgáltat. Az eredeti módszert módosítanunk kellett és néhány cm^3 -es térfogattartományba kellett állítani.

A meghatározás kivitelezése

A homogenizált mintából 5 g-ot gömblombikba mértünk, majd néhány üveggyöngyöt és 30 cm^3 6 n sósavat mértünk rá. Visszafolyós hűtőt szereltünk a lombikra és enyhe forralással hidrolizáltuk 16 órán át.

A lehűtött hidrolizátumot 200 cm^3 -es lombikba mostuk, majd jelig öntöttük. Analitikai szűrőpapíron szűrtük. A szűrletből 10 cm^3 -t 65°C -on evaporáltunk vacuumban. Mostuk 10 cm^3 vízzel, és ismét szárazra pároltuk. A mosást és szárítást kétszer végeztük el. $0,001 \text{ n}$ NaOH-ban felvettük a párlási maradékot, majd 25 cm^3 -es mérőlombikba mostuk, jelig öntöttük. (A hidroxilizin tartalomnak $1-20 \mu\text{g}/\text{cm}^3$ koncentráció tartományba kell esnie.) 1 cm^3 oldatot polietilén edénybe pipettáztunk, hozzáadtunk 6 cm^3 citrát-foszfát puffert ($\text{pH} = 7$) (346 cm^3 $0,6 \text{ m}$ dinátrium-hidrogénfoszfát és 154 cm^3 $0,15 \text{ m}$ citromsav oldatok elegye). Az oxidálószer 1 cm^3 $0,01 \text{ m}$ vizes perjódsvav oldat. Végül 4 cm^3 extrakciós oldatot mértünk rá. (Extrakciós oldat 250 cm^3 toluol – 250 cm^3 i-butanol és 100 cm^3 n-propanol elegye.) 15 percig ráztuk. Rövid várakozás után a fázisok élesen elkülönültek. (A centrifugálás általában szükségtelen.) A szerves fázisból 1 cm^3 -t kolorimétercsőbe pipettáztunk, 1 cm^3 színeképzőt adtunk hozzá. A színeképző 8 g p-dimetilaminobenzoldehid (DABA) + 30 cm^3 perklorásvav i-butanollal 100 cm^3 -re feltöltve. Szobahőmérsékleten a szín mintegy 15 perc alatt kifejlődött, és 565 nm -nél mértük a reakció vakpróbával szemben.

A kalibrációhoz tiszta hidroxilizinnel készült oldatokat használtunk, a leírás szerint $1-20 \mu\text{g}/\text{cm}^3$ koncentrációval.

A hidroxilizin-exponens értékei

A hidroxilizin-exponens meghatározása a sertés- és marhahús közötti különbségtételt szolgálta feltételezésünk szerint. Jelentősen eltérő hidroxiprolin-hidroxilizin arány esetén ugyanis a kettő meghatározása után a sertés- és marhahús arányának közelítő becslésére nyílna lehetőségünk (1. táblázat).

1. táblázat

A hidroxilizin-exponens értékek

	A	B	C
Csirke bőr	2 640	150	5,68
Csirke comb	696	45	6,46
Marha comb	936	42	4,48
Marha nyakán	5 760	351	6,09
Marha tőgy	1 068	192	10,97
Marha pácál	4 032	222	5,50
Sertés karaj	276	32	10,81
Sertés tüdő	2 244	150	6,68
Sertés bőr	11 808	798	6,75
Párizsi	1 164	60	5,15
Nyári túrista	1 524	63	4,13

Jelölések:

A = hidroxiprolin tartalom mg/kg-ban

B = hidroxilizin tartalom mg/kg-ban

C = hidroxilizin exponens: hidroxilizin-tartalom a hidroxiprolin-tartalom százalékában

A hidroxilizin értékek nagyságrendileg egyeznek az irodalomban szereplő (2, 3) értékekkel.

A kevés számú mérési eredmény alapján fajspecifitásra nem lehet következtetni.

IRODALOM

- (1) Blumenkrantz, N., Asboe-Hansen, C.: Anal. Biochem. 56, 10, 1973.
- (2) Blumenkrantz, N., Prockop, D. J.: Anal. Biochem. 39, 59, 1971.
- (3) Van Slyke, D. D., Hiller, A., Mac Fadien, D. A.: J. Biol. Chem. 141, 681, 1941.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ГИДРОКСИЛИЗИНА. ПОКАЗАТЕЛЬ ГИДРОКСИЛИЗИНА

М. Балнт

Автор в статье знакомит кроме метода определения гидроксипролина также и метод определения гидроксиаминокислоты являющейся важной составной частью коллагена. Помощью этого определения предоставляется определить содержание гидроксипролина так называемого «экспонента гидроксизина».

BESTIMMUNG DES HYDROXYLYSINS. DER HYDROXYLYSIN- EXPONENT

M. Bálint

Ausser dem Hydroxyprolin wurde eine Methode auch zur Bestimmung der anderen bedeutenden Hydroxyaminosäure des Kollagens adaptiert. Mittels dieser Bestimmung ist es möglich, einen auf den Gehalt an Hydroxyprolin bezogenen sogenannten „Hydroxylysinexponent“ anzugeben.

DETERMINATION OF HYDROXYLYSIN. THE HYDROXYLYSINE EXPONENT

M. Bálint

Besides hydroxyproline also a method was adapted for the determination of another significant hydroxyaminoacid of collagen. By means of this determination it is possible to establish the so-called "hydroxylysine exponent" related to the hydroxyproline content.