

A B₁-vitamin tartalom, valamint a peroxidáz és kataláz aktivitás tárolás alatti változása hazai rizsekben*

LÓZSA ALBERT és KOLLER KATALIN

Orvostudományi Egyetem Közegészségtani Intézete, Szeged

Bevezetés

A B₁-vitamin tárolás alatti változásáról az irodalmi adatok eltérőek. G ó t h [5] utal Jansennek egy vizsgálatára, aki 100 éve tárolt rizsben ugyanannyi aneurint talált, mint a mostaniakban, ezért szerinte állás közben ennek mennyisége egyáltalán nem csökken. Jansent F i n d l a y [4] is idézi, aki viszont 38 éve eltett borsóban már talált csökkenést. S h i m o d a s munkatársai [21] a problémát állatkísérletben tanulmányozva jelentős vitaminvesztéséről számolnak be. Azt találták, hogy a friss rizs B₁-vitamin tartalma úgy aránylik az egy éve tároltéhoz, mint 5 a 3-hoz. A modern vizsgálatok határozottan hivatkoznak a tárolás alatti vitamin-csökkenésre. Így többek között K i k és W i l l i a m s [7] tanulmányozták behatóan a kérdést, akik a különböző rizs-termékekben 4—15%-os vitaminvesztéséget találtak 3 hónap alatt. Korábbi vizsgálatainknál [12] mi is azt találtuk, hogy az ugyanazon helyről származó rizsben annál kevesebb a B₁-vitamin, minél régebben aratták. A 2—3 éves tárolás alatti vesztéséget mintegy 30%-ra becsültük. Néhány adat arra is utalt, hogy a vitamin-elbomlás az első évben nagyobb, mint később.

A bomlás oka hőhatással nem magyarázható. V o g e l [24] szerint még a kristályos anyag is (mely így sokkal érzékenyebb, mint a tápanyagokban) savanyú közegben változatlanul megmarad 120°-os hevítés esetén is. Az aneurin tehát a rizsszem gyengén savanyú miliójében a tárolás alatti legmagasabb évszakos hőmérséklet hatására sem károsodhat. Oxidatív behatásra azonban igen érzékeny és gyorsan elbomlik [24]. Bármily csekély a nyugvó mag légzése, az oxidáló fermentek nagy aktivitása állandóan zajló oxidációs folyamatokra enged következtetni. Így feltehető, hogy több hónapos, vagy éves tárolás során a B₁-vitamin is oxidatív bomlás miatt csökken. Ez az esély annál is inkább fennállhat, mert éppen a csírában találjuk igen nagy koncentrációban, ott, ahol K o z m i n a és K r e t o v i c s [9] szerint a légzés intenzitása és az oxidáló enzimek aktivitása sokszorosan nagyobb, mint az endospermben. Ráadásul V o g e l [24] szerint a rizs csírája kétszer annyi B₁-vitamint tartalmaz, mint a búzáé, ami még inkább növeli a lehetőséget, hogy az oxidációs folyamatok útjában károsodjék.

Az oxidáló fermentek közül a polifenoloxidáz, peroxidáz és kataláz aktivitását már H i g u c h i [6] vizsgálta a japán rizsekben. Megállapította, hogy ezek párhuzamosan változnak, ezért a két előbbi enzim nehézkes meghatározása miatt csak a kataláz aktivitását regisztrálta különböző rizsfajták két éves tárolása folyamán. Előhántolt rizseknél azt találta, hogy aratástól májusig alig van változás, innen azonban igen nagy aktivitás csökkenés mutatkozik októberig. A következő évben a folyamat hasonló periodicitással, de kisebb intenzitással folytatódik. A má-

* A Magyar Tudományos Akadémia támogatásával készült munka.

sodik év végén a kataláz aktivitása már igen csekély. A szerző utal még Noguchi vizsgálataira, aki hasonló körülmények között éppen ellentétes eredményre jutott.

Higuchi [6] úgy vélte, hogy saját adatait támogatják Shimoda és munkatársai [21] adatai is, akik a B₁-vitamin tartalomban hasonló csökkenést találtak. Ezért a két folyamatot parallelnek tekintve, javasolta a könnyen meghatározható kataláz aktivitás alkalmazását a B₁-vitamin tartalom indirekt meghatározására. Ez utóbbi célra Kollhaas [8] az össz-foszforsav tartalom meghatározását ajánlja, mivel ez szerinte a B₁-vitamin tartalommal számszerű összefüggésben van.

Jelen munkánk célkitűzése a B₁-vitamin elbomlásával összefüggésbe hozható változásoknak ugyanazon mintákon, azonos módszerekkel való tanulmányozása, az irodalmi ellentmondások okának tisztázása és a vitaminvesztés megakadályozása volt.

Felhasznált anyag és módszerek

Vizsgálatainkat 1952 áprilisában kezdtük meg 1951 őszi aratott négy mintán, ezekből tehát a közvetlen aratás utáni időben nem végezhetünk meghatározásokat. Később még egy rizsmintát kaptunk, melyet 1952 őszi arattak. Ezt azonnal vizsgálhattuk. A minták közül négy ársztással, egy pedig szárazon termesztett. Az előbbieket a Szegedi, az utóbbit a Pallagpusztai Mg. Kísérleti Intézetből kaptuk.

A rizsmintákat toklásban tároltuk az Intézet egyik helyiségében, ahol az évi hőingadozás szélső értékei +12 és +26 °C voltak. Minden hónapban közvetlenül a meghatározások előtt a minták egy részét előhántolás, ill. csiszolás után megőröltük, és ezekből meghatároztuk a B₁-vitamin tartalmát, a peroxidáz és kataláz aktivitását. Később a vizsgálatokat csak kéthavonként végeztük és 1953 októberében befejeztük. Négy rizsmintánál tehát másfél évig, egynél pedig egy évig tanulmányoztuk a változásokat. Két alkalommal meghatároztuk még a maradék-N mennyiségét, egyszer pedig az összes fehérje-frakciókat. Ez utóbbiakban lényeges eltolódást nem várhattunk a tárolási idő alatt, egy meghatározásra azonban szükségünk volt, mivel korábban azt találtuk [12], hogy a B₁-vitamin és fehérje tartalom közt összefüggés van.

Az enzim meghatározások mindegyikét módosítanunk kellett. A peroxidáz aktivitását Higuchi [6] csak néhány rizsnél határozta meg. Az ismert pirogallol eljárást használva, ezt más szerzőkkel együtt igen megbízhatatlan és nehézkes módszernek találta. Mi is ezt tapasztaltuk, ezért helyette p-fenilén-diamint használtunk, amely kevésbé érzékeny a levegő oxigénjével szemben, H₂O₂ jelenlétében azonban a peroxidáz könnyen és gyorsan oxidálja. Erre a reakció folyamatra megkerestük az optimális kísérleti feltételeket. A peroxidáz Bach [2] szerint híg savakkal és lúgokkal szemben elég érzékeny. A 10 perces inkubálás alatt valóban ugyanolyan hatást mutat, akár desztillált vizet, akár neutrális puffert használunk. Ezért a puffert itt elhagytuk, hogy az enzimmolekulának híg kénsavval való leállításakor ez ne tompítsa a sav aciditását. Az inkubálás alatt az oldat piros, sötétbarna vagy fekete lesz, az enzim aktivitásától függően. Az enzimmolekulát kénsavval leállítva, az oldat kisérgul. Nemsokára újra pirosodni kezd, 4–5 óra múlva elér egy (mindig piros) színmaximumot, mely csaknem egy napig állandó. Az enzimmolekulán színes terméké oxidált p-fenilén-diamin ugyanis a kénsavval tovább reagál az enzimek inaktiválása után. A peroxidáz által el nem oxidált, változatlan p-fenilén-diamin azonban nem reagál a kénsavval, ezért a létrejött piros szín intenzitása kizárólag a peroxidáz aktivitásával arányos.

A rizs kataláz aktivitásának meghatározását Higuchi [6] ugyan kidolgozta, azonban a viszonylag hosszú inkubálási idő ellenére puffert nem használt. Bach [2] szerint a kataláz savakkal szemben igen érzékeny. Mi is azt találtuk, hogy már p_H = 5–6-nál is elég nagy az aktivitás csökkenése. Másrészt Higuchi [6] az aktivitás mértékéül az elbontott H₂O₂ mennyiséget a bevitt H₂O₂%-ában adta meg, ami félreértésre adhat okot az aktivitás egységét illetően. Végül a meghatározást nem ismert súlyú, hanem adott számú rizsszem örleményéből végezte, vagyis a vizsgált anyag mennyisége a szem súlyától változott. Vizsgálatainknál ezeket a hibákat iktattuk ki.

A meghatározásokat a következőképp végeztük:

1. A B₁-vitamin tartalmát korábban közölt módszerünkkel [12] határoztuk meg, melynél az ismert thiokróm eljárást a rizsekre alkalmaztuk.

2. A peroxidáz meghatározását 20 °C-nál végeztük. Kémcsőbe 0,1 g megőrölt mintához 5 ml desztillált vizet adtunk és állni hagytuk negyedóráig. Ezután stopperrel mért időben a következő reagenseket adtuk hozzá: a 0 mp-ben 2 ml 1%-os vizes p-feniléndiamin oldatot (frissen készítve közvetlen a meghatározás előtt), a 15 mp-ben 1 ml 0,5%-os H₂O₂ oldatot, végül a 10 perc 15 mp-ben 10 ml 1 : 5 hígítású kénsavat. Minden reagens hozzáadása után a kémcső tartalmát összeráztuk.

Vakpróbát hasonlóképpen készítettünk, csak rizsminta nélkül. 5–6 óra állás után (20°-on) a vizsgálandó próbát megszártuk és Pulfrich-féle Stufenfotométerben S 50 szűrővel, vagyis 49,6 m μ -nál, 0,5 cm (előhántolt mintáknál), ill. 2 cm rétegvastagságban (csiszolt mintáknál) az extinkciót a vakpróbával szemben leolvastuk. A peroxidáz aktivitás mértékéül a 0,5 cm rétegvastagságban mért (csiszolt mintánál pedig az erre átszámított) extinkció értéket vezettük be (önkényes egység).

3. A kataláz aktivitás meghatározása céljából 2 g elporított mintát 100 ml 25 C° hőmérsékletű desztillált vízzel, időnkint felrázva 1 óráig állni hagyunk. Szűrtük. A szűrletből 20 ml-t 200 ml-es Erlenmayer lombikba vittük, 25°-os vízfürdőbe helyeztük, hozzáadtunk 3,5 ml 1/15 mólos foszfát puffert ($p_H = 7,0$), majd 10 ml pontosan 0,5%-os H_2O_2 oldatot. Ezután pontosan 1 óra múlva 25 ml 1 : 5 hígítású kénsav hozzáadásával leállítottuk az enzimműködést, majd a mintát (melegítés nélkül) 0,1 n káliumpermanganáttal megtitráltuk a halvány rózsaszín félperces megmaradásáig. Hasonlóképpen végeztük a vakpróba meghatározását is, csak H_2O_2 helyett desztillált vizet használtunk. Minden meghatározás előtt ellenőriztük a permanganát és H_2O_2 titerét (10 ml pontosan 0,5%-os H_2O_2 oldat 29,5 ml 0,1 n permanganátot fogyaszt savanyú közegben). A vakpróbánál fogyott permanganát ml-ek számából levontuk a mintánál kapott ml-ek számát. Az eredményt szoroztuk a permanganát faktorával, továbbá 1,7008 szorzószámmal (mert 1 ml 0,1 n permanganát megfelel 1,7008 mg H_2O_2 -nek) és 2,5-tel (mert a 20 ml kivonat megfelel 0,4 g rizsmintának, amit 1 g-ra számítottunk át). A kapott szám a kataláz aktivitásának mértéke és az 1 g rizsminta által 1 óra alatt 25 C°-on és $p_H = 7,0$ -nél elbontott H_2O_2 mennyiséget jelenti mg-ban. Az aktivitás egysége tehát 1 mg elbontott H_2O_2 .

4. A fehérjefrakciókat Ló z s a szerint [11] szeparáltuk, az egyes frakciók N-tartalmát a P r e g l [19] által módosított mikro Kjeldahl eljárással mértük. A N-tartalom átszámítása fehérjére 6,25 szorzószám alkalmazásával történt.

A kísérleti adatok ismertetése

A továbbiakban csak a toklásban tárolt és közvetlen a meghatározások előtt előhántolt mintákon nyert adatokat ismertetjük részletesen. A B₁-vitamin tartalom kéthónaponkénti változását az 1. ábra szemlélteti. A legjellegzetesebb (áprilisi és októberi) adatokat az 1. táblázat tartalmazza, ahová a minták termőhelyét, számát, az aratás évét és a termőtalaj típusát is felvettük. A 2. ábra a minták peroxidáz, a 3. ábra pedig a kataláz aktivitásának változását mutatja, ugyancsak kéthónapos léptékben. A legjellemzőbb (áprilisi és októberi) adatokat a 2. táblázatban találjuk. Végül az egy alkalommal (1952. okt.) meghatározott fehérje-

1. táblázat

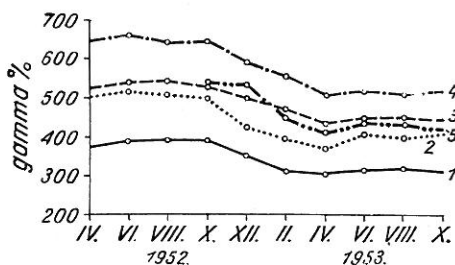
A B₁-vitamintartalom változása a tárolás alatt

(1) A minta termőhelye és jelzése	(2) Aratás éve	(3) Talaj	(4) B ₁ -vitamin gamma%			
			1952		1953	
			ápr.	okt.	ápr.	okt.
Vizesfás (Kisújszállás) 3075	1951	réti agyag (5.)	375	390	306	315
Kopáncs S. S. (ÖMIRT. 39.)	1951	szikes (6.)	502	495	371	412
Besenyszög Ai-26 (Be-12)	1951	szikes (6.)	524	528	435	444
Pallagpuszta P. 73.	1951	homok (7.)	649	643	505	518
Besenyszög Ai-8 (Be-4)	1952	szikes (6.)	—	541	408	419

frakciók adatait a 3. táblázat tartalmazza. Itt láthatjuk a korábbi (1952. ápr.) maradék-N meghatározások eredményét is.

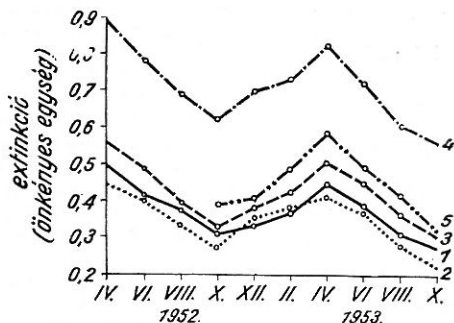
Az ábrákon a görbék minden egyes pontja legalább két meghatározás középértékét jelenti. A paralel nyert adatok eltérése a középértéktől, a peroxidáz és kataláz aktivitás meghatározásánál maximálisan $\pm 2\%$, a B₁-vitamin meghatározásánál $\pm 3\%$, a fehérje meghatározásoknál pedig $\pm 0,3\%$ volt.

A csiszolt és őrölt mintákban talált változásokat a tárgyalás későbbi fejezetében ismertetjük. Az itt nyert adatokra a szövegben hivatkozunk.



1. ábra

A B₁-vitamin tartalomváltozása a tárolás alatt. Ordinata: B₁-vitamin gamma per 100 g rizs. Abszcissa: Tárolási idő.



2. ábra

A peroxidáz aktivitás változása a tárolás alatt. Ordinata: Extinxió érték (önkényes egység). Abszcissa: Tárolási idő.

A rizsminta termőhelye: 1. Vizesfás. 2. Kopáncs. 3. Besenyszög-51. 4. Pallagpuszta. 5. Besenyszög 52.

A kísérleti adatok értékelése

A) Változások a toklásban tárolt és meghatározás előtt előhántolt mintáknál

1. *Általános változások a peroxidáz és kataláz aktivitásában.* A 2. és 3. ábrán megfigyelhető a peroxidáz és kataláz aktivitás parallel változása. Mindenekelőtt azonban a jellegzetes periodicitás tűnik fel. A változások határozottan 1 éves ritmusra mutatnak. Az aktivitások maximuma mindig áprilisra, minimuma októberre esik, és ez a hullámváz, amely éppúgy bekövetkezik az aratás utáni első, mint második évben, az árasztott rizseknél és a szárazon termőnél egyaránt, igen stabilis jellegnek tűnik.

2. táblázat

A peroxidáz- és katalázaktivitás változása a tárolás alatt

Minta	(2) Peroxidáz aktivitás extinxióban (önkényes egység)				(3) Kataláz aktivitás (elbontott H ₂ O ₂ mg)			
	1952		1953		1952		1953	
	ápr.	okt.	ápr.	okt.	ápr.	okt.	ápr.	okt.
Vizesfás	0,495	0,310	0,444	0,272	79,8	48,4	72,6	42,2
Kopáncs	0,444	0,276	0,409	0,222	92,0	51,6	84,5	47,8
Besenyszög—51	0,553	0,328	0,502	0,305	102,3	70,1	93,8	63,5
Pallagpuszta	0,886	0,620	0,824	0,560	94,4	65,8	88,0	57,7
Besenyszög—52	—	0,387	0,585	0,319	—	78,4	105,8	72,0

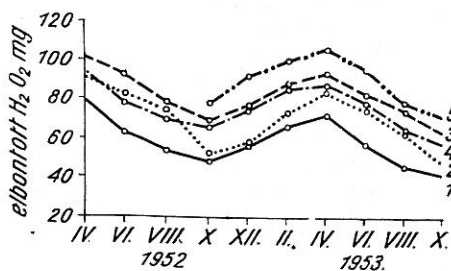
Sziszakjan [23] és Rubin [20] rámutattak arra, hogy az enzimek működésében időszaki ritmus van. Cukorrépa levélben a szaharóz szintézise és lebontása határozott 24 órás periódust mutatott. Ezt az impulzust a növény, természetellenes megvilágítási időeltolódás alkalmazásakor is nagymértékben meg-

őrizte és csak hosszú behatással sikerült az enzimtevékenység ritmusában zavart okozni. Hasonló megfigyelést tettek az oxidáló enzimekkel kapcsolatban. Ezek a tények arra mutatnak, hogy az enzimfolyamatok ritmusa a szervezet alkalmazkodási tevékenysége, és olyan tulajdonság, mely a fajfejlődés folyamán keletkezik és rögzítődik. E kísérletek Darwin ismert tételét is igazolják, mely öröklékény jellegnek tekinti a növényekben végbemenő ritmikus változásokat, kiemelve, hogy a periodicitás bizonyos behatások útján megzavarható.

A vizsgált rizseknél ilyen behatások aligha voltak. Ezeket a rizsfajtákat talán évszázadokon át tavasszal vetették, ősszel aratták, ezért a rizszemben, ezekhez a körülményekhez alkalmazkodva, az enzimes folyamatok 1 éves ritmusa épült ki, amely periodicitásában szépen visszatükrözi a maglátens életében ismétlődően visszatérő két szakaszt, a nyugalmi állapotról és a csírázásra való előkészülés fázisát.

A nyugvó magban, az élő szervezetre jellemzően, szintézis és lebontás állandóan folyamatban vannak, ha csekély intenzitással is. Ezt a két ellentétes folyamatot az élő protoplazma reguláló tevékenysége periódikusan hol az egyik, hol a másik irányban eltolódott dinamikus egyensúlyi állapot felé tereli.

Igy tárolás alatt a magban áprilistól októberig olyan típusú változások ismétlődnek meg (csak persze kisebb intenzitással), melyek az érés folyamatára emlékeztetnek. Kozmina és Kretovics szerint [9] beéréskor a szintetikus folyamatok dominálnak. Keményítő és fehérje képződik, csökken a cukrok és maradék-N mennyisége, az enzimek fokozatosan inaktíválódnak. Nagy Mihály és Füleky [16] szintén azt találták, hogy magkötéstől érésig állandóan emel-



3. ábra

A kataláz aktivitás változása a tárolás alatt. Ordinata: Elbontott hidrogen peroxyid mg. Abszcissa: Tárolási idő. A görbék jelzését lásd 1. ábra.

3. táblázat

Fehérje és fehérjefrakciók mennyisége g%-ban

(1) Minta	(2) Nemfehérje-N		(3) Nyers fehérje	(4) Tiszta fehérje	(5) Albumin	(6) Globulin	(7) Prolamin	(8) Orizenin
	1952 ápr.	1952 o k t o b e r						
Vizesfás	0,053	0,039	8,186	7,943	0,321	0,670	0,627	6,325
Kopáncs	0,070	0,049	9,336	9,033	0,358	0,727	0,751	7,197
Besenyszög—51	0,089	0,064	9,721	9,320	0,552	0,706	0,702	7,360
Pallagpuszta	0,117	0,088	10,937	10,390	0,506	0,821	0,804	8,259
Besenyszög—52	—	0,071	9,906	9,462	0,593	0,720	0,692	7,457

kedik a rizsben a fehérje-N, és csökken az amid-N mennyisége. A 3. táblázatban mi is azt látjuk, hogy áprilisban mindegyik mintánál nagyobb a maradék-N (nemfehérje-N) értéke, mint októberben. A 2. és 3. ábra pedig azt mutatja, hogy ebben a periódusban a peroxidáz és kataláz aktivitása is csökken. Mivel ezek a fermentek

az aerob légzés rendszerében szerepelnek, minden jel arra mutat, hogy az egész folyamat a lehető legkisebb energiafelhasználás állapotának beállítására törekszik. A mag nyugalmi állapotra készül.

Októbertől megfordul a folyamatok iránya és áprilisig mind kifejezettebben a csírázásra való előkészülés jeleit mutatja. Maga a csírázás Kozmina és Kretovics szerint [9] dominánsan lebontási folyamat. Megindul a nagymólsúlyú tápanyagok hidrolizise, az enzimek erősen aktiválódnak, intenzívebb légzés és nagy energiafelszabadulást eredményező folyamatok indulnak meg. Az ilyen típusú változások azonban megindulnak már a nyugvó magban is. A peroxidáz és kataláz aktivitás jelentős növekedése intenzívebb aerob légzésre utalnak. A mag a vetés idejének közeledtével (melyhez öröklékeny módon alkalmazkodott) felkészül a csírázásra.

Ha a magot ekkor nem vetjük el, hanem tovább tároljuk, nem fog sokáig megmaradni ennél a magas energiafelhasználási állapotnál, hiszen ez a csírázáshoz szükséges tápanyagok gyorsabb felhasználásához vezetne. Megismétlődik tehát az április-október periódusra jellemző szintézis, takarékos raktározás, a nyugalmi, lehető legkisebb energiafelhasználási állapot elérésére való törekvés. A peroxidáz és kataláz aktivitása is újra jelentősen lecsökken.

Sok éves tárolás esetén az ellentétes irányú folyamatok periódikus hullámozása nyilván csak addig tart, míg a csíra él és az enzimmolekulákat szabályozni képes. Hogy ez meddig terjedhet, adatainkból nem tűnik ki. Azt azonban megfigyelhetjük, hogy a peroxidáz és kataláz aktivitása az aratás utáni második áprilisban már nem emelkedik olyan magas értékre, mint az elsőben. Az aktivitások minimum értékei is kisebbek az aratás második évfordulóján, mint az elsőn. Hogy a csökkenés a továbbiakban egyenletesen folytatódik, vagy sem, itt most figyelmen kívül hagyható. Azt biztosra vehetjük, hogy a Jansen által vizsgált 100 éves rizs csíráképes nem volt és benne az enzimek is teljesen inaktiválódtak. Ami pedig Higuchi [6] idevonatkozó adatait illeti, mely szerint a kataláz aktivitás az október-áprilisi szakaszban nem emelkedik, ennek mi éppúgy az ellenkezőjéttapasztaltuk, mint az általa idézett Noguchi.

2. *Általános változások a B₁-vitamin tartalomban.* Az elmondottak alapján figyelemmel kísérve a B₁-vitamin tartalomban beállott változásokat (1. ábra), azt látjuk mindenekelőtt, hogy csak a változások iránya más, de az említett 1 éves periódus itt is felismerhető. Kétségtelenül összefüggésben áll tehát az enzimmolekulák ritmikus változásával. Áprilistól októberig, a domináló szintézis fázisában, a B₁-vitamin mennyisége alig változik, vagy gyengén növekszik. A tápanyag-átcsoportosításnak ebben a periódusában az aneurinnak ilyen kisfokú szintézise, vagy felszabadulása mindenesetre elképzelhető. Az októbertől áprilisig terjedő szakaszban, amikor a lebontási folyamatok uralkodnak, a B₁-vitamin mennyisége is jelentősen csökken. A csökkenés oka ebben a fázisban elvileg bármiféle lebontási folyamattal magyarázható volna, a biokémiában azonban úgyszólván csak oxidatív behatások ismeretesek, melyek során ez a vegyület hatástalan származékokká alakul.

Az a tény, hogy a B₁-vitamin tartalom az egyik periódusban alig változik, a másikban pedig jelentősen csökken, feltevésünk szerint két, szintén periódikusan változó folyamatnak a találkozása, ill. eltávolodására vezethető vissza. Az egyik az oxidációs folyamatok megerősödése ill. csökkenése, a másik az aneurinnak túlnyomórészt szabad (oxidatív behatásra érzékenyebb), ill. jelentős részben kötött (kevésbé oxidálható) állapotba való átmenetele.

A B₁-vitamin veszteség az október és április közti időszakban következik be, ugyanakkor, amikor az oxidáló enzimek aktivitása jelentősen megnövekszik.

Nyilvánvaló, hogy itt az aerób légzés fokozott és az ilyenkor mindig képződő H_2O_2 mennyisége is nagyobb. Ennek felhasználásával a peroxidáz is fokozottabb mértékben képes az oxidálható anyagok megtámadására. B a c h [2] klasszikus kísérletei szerint ugyanis a kataláz a légzéskor felszabaduló H_2O_2 -nak csak a peroxidáz által fel nem használt részét bontja el inaktív termékekre. A könnyen oxidálható anyagok sorában azonban ott szerepel, ha nem is első helyen, az ilyenkor túlnyomórészt szabad állapotban jelenlévő B_1 -vitamin is.

Hogy áprilistól októberig a vitamin egy része fokozatosan kötött állapotba kerül, fel kellett tételeznünk az alábbi kísérlet alapján. A tárolt pallagi rizsből 1952 októberében készített előhántolt minta 643 gamma % B_1 -vitamint tartalmazott. Ekkor 5 g elporított mintát 50 ml desztillált vízzel dializáló hüvelybe mostunk és ezt 1% toluol jelenlétében, + 4 C°-on, mindennap cserélt 4 liter desztillált vízzel szemben 8 napig dializáltuk. Az anyagot kvantitatíve átmosva egy lombikba, B_1 -vitamin tartalmát meghatároztuk. Ezt 222 gamma %-nak találtuk. A vitaminnak tehát mintegy harmad része olyan erős kötésben van jelen, hogy 8 napos dializissal sem szakítható le.

Ismeretes, hogy a B_1 -vitamin pirofoszforsav-észtere, kofermentje a karboxiláz enzimnek, mely az anaerób glükolízis utolsó fázisában játszik szerepet. K u t h y és J u h á s z [10] szerint a koenzim oly labilisan van a fehérjéhez kötve, hogy egyszerű vizes oldatban is erősen ledisszociál róla. A kofermentnek ezért relative magas koncentrációt kell elérnie, hogy a fehérjerész eléggé telítve legyen, azaz a ferment eléggé aktívan tudjon működni.

A karboxiláz aktivitása a tárolt rizsben nyilván akkor emelkedik, amikor a többi enzimek aktivitása is, tehát októbertől ápriliséig. Ebben a dominánsan lebontási periódusban tehát sok aneurinnak (ill. aneurin-pirofoszfátnak) kell szabadon lennie, hogy a disszociáció ne tolódjék el, azaz a fehérjerész telítve legyen. Az aneurin ebből a célból valami erősebb kötésből felszabadul. A szabad vitamin (vagy akár pirofoszfátja) azonban már érzékenyebb az ebben a szakaszban amúgy is intenzívebb oxidációs folyamatokkal szemben, ezért egy része elbomlik.

Áprilistől októberig, mint a többi ferment aktivitása, a karboxilázé is csökken. Ez talán éppen azért jön létre, hogy a fermenttel egyensúlyt tartó szabad B_1 -vitamin (ill. pirofoszfát) egy része elvonódik, ebben a dominánsan szintetikus periódusban valami stabilabb kötésbe kerül, így a fehérjerésztől sok koferment ledisszociál, mire az enzim aktivitása csökken. A jelentős részben kötött állapotban levő vitamin az ebben a periódusban egyébként is gyenge oxidációs folyamatokat könnyen túléli.

Az az erősebb kötődési mód, mely a vitamint védi az oxidációtól, s melyből az dializissal nem szakítható le, még nem ismeretes előttünk. Tény az, hogy ha az örlemény helyett annak vizes kivonatát dializáljuk, akkor is hasonló eredményhez jutunk. Nem lehet tehát a sejtfalhoz kötve, de nem lehet a ferment, vagy koferment alakban kötött vitaminról sem szó. A koferment ugyanis a fehérjerésztől könnyen ledisszociál, s a dializáló hártján áthalad, továbbá oxidatív behatásra éppoly érzékeny, mint maga a szabad B_1 -vitamin [24]. Fontos még megjegyeznünk, hogy meghatározásainknál mindig az össz B_1 -vitamin mennyiséget kapjuk, mert előzetesen sósavas hidrolízist alkalmazunk, mely a vitamint stabil kötésből is szabadá teszi.

3. *A peroxidáz és kataláz aktivitás viszonya az egyes rizsmintáknál.* Az eddig tárgyalt általános, minden rizsmintára jellemző változásokon túlmenően, az egyes minták adatainak összehasonlításánál mennyiségi különbségeket is találunk. Mindjárt feltűnik, hogy nagyobb kataláz aktivitáshoz nem feltétlenül tartozik nagyobb peroxidáz aktivitás is. H i g u c h i [6] megfigyelése, mely szerint az oxidáló

enzimek aktivitása parallel változik, helytálló, azonban egyiknek az aktivitás nagyságából a másikéra pontosan következtetni nem lehet. Ha a peroxidázt és katalázt együtt úgy képzeljük el, mint a protoplazma által irányított, jól definiált arányú oxidációs egységet (a sokkal komplexebb oxidációs rendszer egy részét), úgy a kettő aktivitásának viszonya rámutat, hogy a protoplazmának egy olyan tulajdonságára, melyet a környezethez való alkalmazkodás során szerzett. Az alábbi táblázat azt mutatja, hogy az egyes mintákban 100 kataláz egységhez hány peroxidáz, ill. 1 peroxidáz egységhez hány kataláz egység tartozik. (Az adatokat a 2. táblázat 1952 okt. adataiból számítottuk ki):

	Vizesfűs	Kopáncs	Beseny- szög—51.	Pallag	Beseny- szög—52.
100 kataláz egységhez tartozó peroxidáz- egység	0,64	0,54	0,47	0,94	0,49
1 peroxidáz egységhez tartozó kataláz egység	156	187	214	106	203

Ha a vizesfűsi rizsnél kapott adatokat úgy tekintjük, hogy azok a réti agyagon való termesztés folyamán alakultak így, akkor ehhez viszonyítva a szikes talajon való termesztés olyan eltolódást eredményezett, melyre a relatíve nagyobb kataláz és kisebb peroxidáz aktivitás jellemző. A szárazon termesztett pallagi rizsnél éppen ellenkező irányú, de jóval nagyobb mértékű eltolódást találunk. Relative alacsony kataláz aktivitáshoz itt olyan magas peroxidáz aktivitás tartozik, hogy ezt a változást már nem tekinthetjük egyszerűen a nyírségi homokos talajon való termesztés következményének.

Ismeretesek M á t h é [14, 15] nagyjelentőségű kísérletei, melyek során jarovizálás alkalmazásával ezt a szárazon termő rizsfajtát előállította. O p a r i n és Z e n c s e n k o [17] kísérleteiben jarovizálás hatására megváltozott az enzimek működésének irányitottsága. A szerzők utalnak Demkovszkij és mások megfigyeléseire is, mely szerint búzánál a jarovizálási folyamat alatt a kataláz és peroxidáz aktivitása is megváltozott. Az eljárás azért hat ki az enzimgyakorlatok irányitottságára, mert ilyenkor magában a protoplazmában mennek végbe mélyreható változások, melyek a jarovizált növény további fejlődése során megszilárdulnak.

Az előbbi adatokat, a peroxidáz és kataláz aktivitás viszonzyszámát tehát úgy tekinthetjük, mint a protoplazma sokrétű tulajdonságai egyikének indexét, amely a rizsmintára jellemző, de amely más talajtípus hatására is kis mértékben, jarovizálás hatására pedig jelentősen megváltoztatható. Ugyanekkor, mint az ábrákon láthatjuk, az enzim aktivitások változásában megfigyelt 1 éves ritmus a pallagi rizsnél is változatlanul megmaradt. A protoplazmának ezt a tulajdonságát a jarovizálás sem befolyásolta.

4. *A B₁-vitamin tartalmat meghatározó tényezők.* Sokan fáradoztak olyan összefüggések felderítésén, melyek megmagyarázhatnák, mitől függ a rizs aneurin tartalma. E vizsgálatok további célja a vitamin-tartalom növelése volt, melynek gyakorlati jelentősége a rizsevő népeknél máig is alig megoldott egészségügyi problémával [1] függ össze.

A rizs B₁-vitamin tartalmát H i g u c h i [6] a kataláz aktivitással hozta összefüggésbe. Saját vizsgálatainak más szerzők [21] adataival való kevéssé szerezésű időperiódusbeli összehasonlítása őt arról győzte meg, hogy parallel változásról van szó. Míg ugyanis H i g u c h i [6] a kataláz aktivitás változását havon-

ként regisztrálta, addig Shimoda és munkatársai [21] csak a friss és az 1 éves rizs aneurin tartalmát vizsgálták meg. Nem kétséges, hogy az 1 évig tárolt rizsben mind a vitamin tartalom, mind a kataláz aktivitás kisebb már, mint a frissen arattban, csak hogy közben a változások éppen nem parallel haladnak. Emiatt nem is lehet arról szó, hogy az egyiknek az értékéből valamely faktor alkalmazásával a másiknak a mennyiségét bármely időpontban meghatározhassuk. Higuchi megfigyelése, ha számszerű összefüggésről nincs is szó, mégsem egészen alaptalan. Az árasztott rizseknél mi is azt látjuk, hogy a nagyobb kataláz aktivitáshoz nagyobb vitamin tartalom tartozik. Persze a pallagi mintánál már ez a kalkuláció sem használható, mert itt a relative alacsony kataláz aktivitás mellett hatalmas B₁-vitamin tartalmat találunk.

A peroxidáz aktivitásából szintén kevésbé következtethetünk a vitamin tartalomra. Eszerint például a kopáncsi rizsben kevesebb aneurinnak kellene lennie, mint a vizesfásiban, holott jóval több van.

Koohasa [8] a jávai rizsekben a B₁-vitamin tartalom és az össz-foszforsav közt talált számszerű összefüggést. Mi ezt a kérdést nem tanulmányoztuk. Lehetséges, hogy közvetlen az aratás után valóban fennáll ez az eset, később azonban a vitamin tartalom csökken, az össz-foszforsav pedig nem, a számszerű összefüggés tehát itt is hamar felborul.

Az említett két kutatónak a vitamin indirekt meghatározására irányuló fáradozásánál jóval fontosabbak azok a megfigyeléseik, melyeknek jelentőségét maguk alig értékelték. Így Higuchi [6] igen nagyszámú rizsminta vizsgálata alapján azt találta, hogy a kataláz aktivitás megváltozik a különböző Japán tartományokban való termesztés folyamán, azonos vetőmag esetén is. Ebből azonban csak annyi következtetést szűrt le, hogy az aktivitás legerősebb a Hokkaido, leggyengébb a Formosa rizsnél. Nyilvánvaló pedig, hogy itt primér módon a talajnak mint igen aktív környezeti tényezőnek a hatásáról van szó. Ugyanígy Koohasa [8] adatai is burkoltan arra utalnak, hogy a rizsek B₁-vitamin tartalma a nagyobb foszforsav-tartalmú talajon fokozódott.

Ha abból indulunk ki, hogy a különböző talajtípusok hogyan befolyásolják a rizs aneurin tartalmát, a fenti összefüggések sokkal áttekinthetőbbek. Még tisztább képet nyerünk azonban, ha a talajnak először a fehérjeszintézisre gyakorolt hatásából indulunk ki, mert ebből a többi is megmagyarázható.

Már a korábbi vizsgálatok [11] is azt mutatták, hogy a hazai árasztott rizsek közt azok a legnagyobb fehérje-tartalmúak, melyeket szikes talajon termesztettek. A szárazon termesztett pallagi rizsek még ezeket is felülmúlták. Hasonló eredményre jutottunk a B₁-vitamin tartalom vizsgálatánál is [12]. Ezekből kitűnik, hogy szikes talaj hatására mind a fehérje, mind a vitamin szintézise fokozódik, s hogy ugyanezt a változást idézi elő még kifejezettebben a jarovizálás. A fehérje és B₁-vitamin tartalom együttes változása viszont szembetűnő, ami arra enged következtetni, hogy a vitaminnak, mint N-tartalmú vegyületnek a szintézise a növényben a fehérjeszintézissel párhuzamos úton halad. Ez tehát elméletileg is megalapozott összefüggésre utal a két komponens közt.

A mintáknak a 3. táblázatban található össz-fehérje tartalmát összehasonlítva az ugyanazon időben (1952. okt.) meghatározott B₁-vitamin tartalommal, láthatjuk, hogy a nagyobb fehérje tartalomhoz feltétlen nagyobb vitamin tartalom is tartozik, és itt most már a pallagi rizs sem kivétel. Számszerű összefüggés keresésének itt sincs értelme, nemcsak azért, mert az eléggé állandó fehérje-tartalom mellett a vitamin mennyisége csökken, hanem mert a növényi életfolyamatokat igen sok más tényező is módosítja, melyeket még nem tudunk egyszerre figyelembevenni.

Sokkal fontosabb nekünk, hogy a fehérje tartalom növekedését nyomon követi a vitamin tartalom növekedése, és hogy ez a folyamat a talajtípus megfelelő kiválasztásával és kezelésével, vagy jarovizálással, kísérletesen kézben tartható és irányítható.

Jelen vizsgálatunk adatai szerint a réti agyagon termesztett minta fehérje tartalmához képest a szikes talajon termesztett rizseké 14—21%-kal, a pallagi mintáé 37%-kal nagyobb. A B₁-vitamin tartalomban (1952. okt. adatok alapján) a szikes talajon termesztett rizsek 27—39%-kal, a pallagi minta 77%-kal múlják felül a réti agyagon termesztett rizst.

Ezek a számok, mint korábbi adataink is, ismételten arra mutatnak, hogy egyrészt az árasztással termesztett rizsfajtáknak a szikesekre való mind nagyobb arányú átvitele, másrészt a jarovizálással jobb tulajdonságokat nyert és szárazon való termesztésre alkalmassá tett rizsfajta meghonosítása és elterjesztése hazai rizstermesztésünket a lehető leghelyesebb útra vezették. Ezen az úton tovább haladva joggal várhatók újabb sikerek, melyek a magyar rizs eddigi is magas vitamin és fehérje tartalmának, táplálkozás-élettani értékének [13] további emelkedését eredményezik.

A fentebb vázolt folyamatba jól beilleszthetők most már az idézett kutatók megfigyelései is. Ismeretes, hogy a talaj foszforsav tartalma jelentősen fokozza a fehérjeszintézist. A fokozott N-anyagsere miatt persze növekszik a vitamin tartalom is. A K o l l e r [8] által megfigyelt összefüggésnek tehát ez a folyamat az alapja, melyben azonban a fehérjeszintézis elsődleges jellegét nem lehet figyelmen kívül hagyni. Nem modhatjuk, hogy a foszforsav hatása csak a vitamin tartalom növekedésében nyilvánul meg, hiszen a rizsek átlag 20 ezerszer annyi fehérjét tartalmaznak, mint aneurint.

Ami H i g u c h i [6] megfigyeléseit illeti, a táblázatok adataiból kitűnik, hogy a kataláz aktivitás sokkal inkább összefügg az albumin-frakcióval, mint a vitamin tartalommal. A nagyobb albumin tartalomhoz következetesen nagyobb kataláz aktivitás tartozik, ami nem meglepő, mivel a ferment fehérjerésze feltehetően albumin típusú. A csíra főleg albumin-típusú fehérjét tartalmaz [11], ahol pedig igen nagy a kataláz aktivitása.

Mármost nagyobb fehérje tartalom esetén, legtöbbször az albumin-frakció (és így a vele együttjáró kataláz aktivitás) is nagyobb, de nem mindig, a vitamin tartalom azonban mindig nagyobb. Ezért a kataláz aktivitásból a vitamin tartalomra való (nem számszerű) következtetés gyakran jól beválik, de nem szükségképpen, mint ahogy a mi esetünkben is akadt kivétel.

5. A B₁-vitamin tárolás alatti veszteségét módosító tényezők. Az előbbieken láttuk, hogy a tárolás alatt a vitamin tartalom minden rizsnél csökken és pedig periódikusan. A csökkenés mértéke azonban egyik mintánál nagyobb, másiknál kisebb. A vitamin-veszteséget gammában és %-ban 1952 októbertől 1953 októberig, tehát egy év alatt, az alábbi táblázatban látjuk:

B ₁ -vitaminveszteség	Vizesfás	Kopáncs	Besenyszög—51.	Pallag	Besenyszög—52.
Gamma	75	83	84	125	122
Százalék	19,2	17,0	15,9	19,5	22,6

A %-os veszteség legnagyobb az 1952-ben aratott besenyszögi mintánál, ami arra mutat, hogy az aratás utáni első évben a vitamin-veszteség nagyobb, mint a másodikban. Az ugyancsak Besenyszögről származó, de 1951-ben aratott

mintánál ugyanis a tárolás második esztendeje alatt bekövetkezett veszteséget látjuk, amely már nem ilyen nagy. Feltehető, hogy a további években mindig kisebb lesz a veszteség, végül is a csíra elpusztulásával és az oxidáló enzimek inaktiválódásával a B₁-vitamin tartalom tovább már nem csökken.

A négy 1951-ben aratott rizsnél a vitaminveszteség még mindig elég különböző. A tárolási időn kívül (amely ezeknél azonos) tehát még vannak tényezők, melyek a veszteséget befolyásolják. Két ilyen faktort találunk és ezek hatása ellentétes.

Azt látjuk ugyanis, hogy minél nagyobb a rizsszem említett oxidációs egységében a peroxidáz, azaz minél nagyobb a 100 kataláz egységhez tartozó peroxidáz egység, annál nagyobb a %-os vitaminveszteség. Ez újabb bizonyítéka annak, hogy a peroxidáz valóban képes a vitamint oxidálni, méghozzá annál nagyobb mértékben, minél nagyobb a viszonylagos aktivitása.

Másrészt azonban azt is láthatjuk, hogy ez a viszonylagos peroxidáz aktivitás a pallagi rizsnél sokkal nagyobb, mint a vizesfásinál, a kettőnél mégis csaknem egyforma a vitaminveszteség. A pallagi rizsnél tehát egy másik tényező megakadályozta azt, hogy a peroxidáz aktivitása alapján várható, jóval nagyobb vitaminveszteség bekövetkezzék. Ez a tényező, amely a vitamint az oxidációval szemben védeni igyekszik, a nagyobb fehérje tartalom.

Korábban már megfigyeltük [12], hogy a magas fehérje tartalmú rizseknél a tárolás alatti vitaminveszteség kisebb, mint az alacsony fehérje tartalmúaknál. Itt is ezt látjuk. A pallagi rizsnél a magas peroxidáz aktivitás ellenére, a magas fehérje tartalom miatt alig nagyobb a vitaminveszteség, mint a vizesfási mintánál. A legkisebb vitaminveszteséget azért találjuk az 1951-ben aratott beszenyszögi mintánál, mert itt a viszonylag legkisebb peroxidáz aktivitás mellett nagy fehérje tartalom is szerepel. Ez utóbbi, a szikes talajon termesztett rizsek újabb megbecsülendő tulajdonságára hívja fel a figyelmet.

B) Változások a toklásban tárolt és meghatározás előtt csiszolt mintáknál.

A toklásban tárolt és havonként közvetlen a meghatározások előtt csiszolt rizsmintákban minden vizsgált érték alacsonyabb, mint az előhántoltakban. A csiszolt rizsben a megfelelő előhántolt minta fehérje tartalmának 80—90%-a, B₁-vitamin tartalmának 20—40%-a, peroxidáz aktivitásának 6—28%-a, kataláz aktivitásának 1—12%-a található csak meg.

Főleg az utóbbi adatok, mint látjuk, eléggé változatosak, széles skálán mozognak ahhoz viszonyítva, hogy az enzim aktivitások csekélyek. Így a csiszolt mintáknál korántsem tudtuk a tárolás alatti folyamatokat olyan biztonsággal regisztrálni, mint az előhántoltaknál. Ez nem methodikai nehézségeken mulott. A változatos adatok oka az, hogy az egyes hónapokban nem sikerült a mintákat erre a célra pontosan azonos mértékben lecsiszolni.

K o z m i n a és K r e t o v i c s [9] kimutatták, hogy a gabonaszemben nem is a csírában, hanem a pajzsban és az endoszpermnek a pajzs felőli részében van a legtöbb vitamin és enzim. Hogy tehát az endoszpermnek a pajzs felőli részét milyen mértékben sikerült lecsiszolni, attól függően sokkal nagyobb változásokat kaptunk a viszonylag alacsony vitamin tartalomban és enzim aktivitásokban, hogy sem ezek mellett egy csekély intenzitású biológiai folyamatot figyelemmel kísérhettünk volna.

Hogy a csiszolás mértékétől függően mennyire változnak a vizsgált adatok, mutatják S h i m o d a és munkatársai [21] vizsgálatai is. Azt találták, hogy a csiszolatlan, 50%-ig, 70%-ig, teljesen csiszolt, ill. homokporral csiszolt rizs aneurin

tartalma úgy aránylik egymáshoz, mint 100 : 55 : 43 : 25 : 0. A meghatározást biológiai úton, galambokon végezték.

C) *Változások az előhántolt, csiszolt és őrölt állapotban tárolt rizseknél.*

Előhántolt állapotban tárolt rizsekben a B₁-vitaminveszteség Kik és Williams [7] adatai szerint úgy látszik, már nem periódikus, hanem állandó az enzim aktivitások megszűnéséig. 3 hónap alatt 4—6%, 1 év alatt tehát hozzávetőlegesen 20%. Mi ezt a kérdést nem tanulmányoztuk, mivel a gyakorlatban a vetőmagot toklásban, a kereskedésbeli rizst pedig csiszolt állapotban tárolják.

A csiszolt állapotban tárolt rizs aneurin-veszteségét Kik és Williams [7] 3 hónap alatt 8—9%-nak találták, ami igen jelentős, mivel a vitamin-elbomlás tovább is folytatódik. Korábbi vizsgálataink során [12] mi is hasonló eredményre jutottunk. 14 hazai csiszolt rizsminta B₁-vitamin tartalmát középértékben 157 gamma %-nak találtuk. Egy év tárolás után a középérték 100 gamma % körül volt. Másrészt kereskedésből vásárolt, fél, egy, ill. két éve csiszolt állapotban tárolt rizsek vitamin tartalma 100, 82, ill. 48 gamma %-nak adódott. Ezek az adatok arra mutatnak, hogy csiszolt állapotban tárolt rizsben a vitaminveszteség 1 év alatt 40% is lehet.

Az őrölt állapotban tárolt rizseknél ill. rizstermékeknél még ennél is nagyobb veszteséget találunk. Kik és Williams [7] szerint a malomipari koptatási termékek B₁-vitamin-vesztesége 3 hónap alatt 10—15%, ami 1 év alatt 40—60%-nak felel meg. Hasonlóan nagy, vagy nem sokkal kisebb veszteséget találtunk mi is régebbi meghatározásainkból őrölt állapotban visszamaradt előhántolt és csiszolt rizsmintákban.

Úgy tűnik, hogy ezek az adatok a B₁-vitamin elbomlásának mechanizmusára felállított elképzelésünket teljesen megcáfolják. Még az előhántolt állapotban tárolt mintákban is hamar elpusztul a csíra, talán a hántolásnál bekövetkező esetleges sérülés miatt. A csiszolt vagy őrölt rizseknél pedig élő csíráról és a vele kapcsolatos életfolyamatokról egyáltalán nem is beszélhetünk. Ennek ellenére a vitamin elbomlás továbbra is fennáll, sőt fokozott mértékben, legfeljebb arról van szó, hogy ez az elbomlás most már nem mutatja az 1 éves ritmusnak megfelelő szakasszóságot.

A problémát Palladin [18] nagyhorderejű kísérletei teljesen megvilágítják. Bizonyos behatással (mint többek közt az elporítás) az élő protoplazma előlhető úgy, hogy az enzimek nem károsodnak és tevékenységüket továbbra is kifejtik. Az ily módon előlt borsószem például intenzívebb légzést mutat, mint az élő. Fermentjeire azonban különböző aktiváló, gátló, vagy mérgező anyagok gyakran éppen ellentétes hatást gyakorolnak, a sejtplazma irányító képességének kiesése miatt. Az előlt sejtekben az egyes fermentek tevékenysége többé már nincs koordinálva.

Ez a jelenség érvényes a mi esetünkre is. Az őrölt állapotban tartott rizsminta peroxidáz és kataláz aktivitása, a sejtplazmának az őrléssel nyilvánvalóan bekövetkező elölése ellenére továbbra is megmarad. Az idők folyamán ellenőrzött aktivitás csökkenés lassan, de ezúttal csaknem lineárisan, tehát többé már nem periódikusan halad előre. Korábbi vizsgálatainkból őrölt állapotban visszamaradt 3, 4, 5 éve tárolt mintákban is ki tudtuk mutatni a peroxidázt, habár ekkor már csekély aktivitást mutatott. A kataláz aktivitása hamarabb elvész. Három éve tárolt minták legtöbbszörében ez már nullára csökkent. Előhántolt minták őrleményében az oxidáló enzimek aktivitása viszonylag gyorsabban csökken, mint a csiszoltakéban, mert jóval magasabb értékről indulva 3—4 év tárolás után ugyan-

olyan alacsony értékre süllyednek, mint az utóbbiak. A peroxidáz aktivitás ilyenkor mindkettőnél 0.03 egység körül mozog.

Az oxidáló enzimek tehát az őrölt rizsben elég sokáig fenntartják működésüket. Ezalatt a peroxidáz, melynek tevékenységét élő sejt plazma már nem szabályozza, a B₁-vitamin jelentős részét eloxidálja. A folyamat sebességét csak fokozza az, hogy a peroxidázzal bizonyos szempontból antagonistá kataláz hamarabb elbomlik. Végeredményben tehát K i k és W i l l i a m s [7] adatainak is megfelelően, jóval nagyobb mértékű vitaminvesztés következik be, mint a toklásban tárolt, élő csírával rendelkező rizsnél.

Ugyanez a folyamat megy végbe, csak kisebb mértékben, a csiszolt rizsek tárolása során is, a hiányzó élő csíra miatt, és részben az előhántolt állapotban tárolt rizseknél is, talán a szem sérülése miatt.

D) A tárolás alatti B₁-vitamin-vesztés megakadályozása.

P a l l a d i n [18] megkülönböztetett elölt és elpusztult sejteket (abgestorbene Zellen). Az előbbieknél, mint láttuk, csak a protoplazma pusztult el, a fermentek nem. Az utóbbinál mind a kettő. Ez bekövetkezik pl. 100 C°-ra való hevítés hatására. Az elpusztult sejtekben már minden olyan átalakulási folyamat megszűnik, ami az élőre jellemzően addig végbement.

Ebből kiindulva, joggal várhattuk, hogy a toklászos rizsek felhevítésével így az összes élet- és enzim-folyamatok felfüggesztésével, az aneurin a tárolás folyamán változatlanul megmarad. Megjegyzendő, hogy a C-vitamin konzerválása az iparban az ú. n. blansirozással, ugyanezen az elven alapszik, mert a gőzzel leforrázott gyümölcsben inaktíválódnak az enzimek, melyek különben az oxidációra igen érzékeny C-vitamint hamar elbontanák [10].

A toklásban levő rizst hevíthetjük akár száraz sterilizátorban, akár autoklávban. Így rövidebb behatás elegendő. A cél az, hogy az oxidáló enzimek inaktíválódjának. Ezen túlmenő hőbehatás felesleges. Mi a legegyszerűbb, bár kevésbé praktikus módon úgy végeztük ezeket a modellkísérleteket, hogy a rizsmintát kb. fél cm. rétegben elterítve 105 C°-os szárítószekrénybe vittük. A rizsszemek így csak kb. fél óra alatt vették fel ezt a hőmérsékletet. Ezután előhántoltuk és ellenőriztük az oxidáló enzimek aktivitását. A kataláz aktivitása nullára csökkent, a peroxidáz azonban még mutatott igen csekély aktivitást. A hevítést ugyanígy megismételve, az előhántolt mintában már egyik enzimet sem lehetett kimutatni. A B₁-vitamin mennyisége a hevítés után igen kis mértékben emelkedett, ami a szem nedvesség-tartalmának csökkenésével magyarázható.

A megismételt hevítés eredménye szépen igazolja B a c h [2] megfigyeléseit, aki már régen észrevette, hogy a növényi peroxidáz viselkedése a hevítéssel szemben, nem olyan mint más enzimeké. Míg szerinte a kataláz vizes oldatban forrásig melegítve azonnal és véglegesen elbomlik, a peroxidáz csak a forralás további folytatása esetén megy tönkre. Egyszeri forrásig hevítéssel azonban alig károsodik és aktivitása néhány óra múlva regenerálódik. Egy második felhevítés hatására azonban irreverzibilisen elbomlik.

A vizsgálatokat két mintán végeztük. Hevítés után toklásban tároltuk a megfelelő nem hevített kontroll minták mellett. A fél és egy év múlva megismételt meghatározások az ekkor előhántolt mintákon azt mutatták, hogy míg a természetes rizsben a B₁-vitamin az 1. ábrán megadott csökkenést mutatta, addig a hevített minta eredeti vitamin tartalma alig mérhető eltéréssel változatlanul megmaradt. Fontos megjegyeznünk, hogy ez a meghatározások idején csiszolt

mintákra is vonatkozik, azaz a toklászban hevített és tárolt rizst bármikor csiszolva, abban olyan magas vitamin tartalmat találunk, amely a természetes rizsből csak aratás után nyerhető, később már nem.

A mintákat a meghatározás céljára szokásosan megőröltük. Ami megmaradt, azt fél év múlva újra vizsgáltuk. A természetes minta fél évig tárolt örleményében csaknem 30 % volt a vitaminvesztés, a hevítetténel mintegy 4%. Ez utóbbi vagy azzal magyarázható, hogy az elporított állapotban tárolt rizs a levegővel nagy felületen érintkezve csekély mértékben képes oxidálódni enzimek hiányában is, vagy azzal, hogy a hevítés még sem volt kielégítő és a peroxidáz egy igen csekély része regenerálódott.

Ezek a vizsgálatok ismét bizonyítják, hogy a rizsben a B₁-vitamin hőrezisztens és tárolás alatti vesztesége oxidatív behatás miatt következik be. Az oxidáló enzimek kikapcsolásával a veszteség megszüntethető.

E) A B₁-vitamin tartalom megőrzésének gyakorlati kérdései.

Magyarországon az utóbbi évtizedekben oly kevés beri-beri eset fordult elő, hogy jelentősége csupán elméleti. A B₁-hipovitaminózis azonban igen elterjedt. Sós [22] a háború előtti hazai viszonyok tanulmányozása alapján különösen a csecsemők és kisgyermekek igen rossz B₁-vitamin ellátottságára hívta fel a figyelmet. Kétségtelen, hogy a hipovitaminózis gyakori előfordulását nem a rizsfogyasztás fokozása fogja felszámolni. Viszont ezt egymagában a kenyérfogyasztástól sem várhatjuk. A fehér, vagy félbarna pékkenyér aneurin tartalma ugyanis Sós [22] szerint 35—43, Fekete [3] szerint 35—50 gamma %. Ehhez képest a frissen aratott és csiszolt rizs átlag 157 gamma %-os aneurin tartalma jelentős, mint ahogy a tárolás után végül is a fogyasztóhoz kerülő kereskedésbeli rizs 40—80 gamma %-os vitamin tartalma már semmi előnyt sem jelent a kenyérével szemben.

A B₁-vitamin a legtöbb tápanyagban előfordul, de éppen a leggyakrabban fogyasztottakban kevés van. Ezt a keveset kívánatos megőrizni a rizs esetében is. A magas vitamin tartalmú rizsek előállításán való fáradozásnak nincs semmi értelme, ha annak jelentős hányada a tárolás alatt elvész.

Ha az említett hevítést nem alkalmazzuk, legalább azt kell biztosítani, hogy a tárolás toklászban történjék és csak közvetlen a felhasználás előtt kerüljön csiszolásra. Veszteség persze így is lesz, de relatíve a legkisebb. Nem hevített rizst csiszolt állapotban tárolni célszerűtlen, az itt tapasztalt nagy és lineáris lefutású vitamin-elbomlás miatt.

Ha hevítést alkalmazunk, úgy azt az aratás utáni 1—2 hónapon belül célszerű elvégezni, amikor a vitamin tartalom a legmagasabb. Hevítés után a további tárolás akár toklászban történik, akár csiszolt állapotban, a vitamin tartalom megmarad. A hevített rizs előhántolása és csiszolása bármikor is történik, a rizskorpa, vagy egyéb malomipari koptatási és csiszolási termék igen magas aneurin tartalma is túlnyomórészt megőrizhető a további tárolás folyamán. Ez utóbbi azért jelentős, mert ezeket a termékeket a hazai édes-ipar felhasználja, és mint láttuk, normális körülmények közt ezekben mutatkozik a legnagyobb vitaminvesztés. Itt a vitamin tartósítása már mindenképp indokolt és a hevítés csak abban az esetben felesleges, ha az édes-ipar a frissen aratott rizs koptatási termékeit azonnal felhasználja. A készítményekben tudniillik sütéskor a fermentek ugyanis inaktiválódnak, az ipar tehát, ha nem is tudatosan, maga végzi el a vitamin konzerválását.

A hevített, majd csiszolt mintából főzési próbát is végeztünk. Azt találtuk, hogy valamivel hamarabb megfő, mint a nem hevített. Azonos körülmények közt

az előbbinél 15, az utóbbinál 20 perc főzés volt szükséges. Íz szempontjából semmi különbséget nem tapasztaltunk.

A B₁-vitamin tartósításának ez a módja végül még egy előnyt biztosít. A hevítés mint sterilizációs folyamat, elpusztítja a rizsszeméken található mikroorganizmusokat. Az ilyen rizs hosszú tárolás esetén is baktériumos és gombafertőzésekkel, penészesedéssel szemben biztosabban megvédhető, mint a természetes.

Higuchi [6] említi, hogy Japánban és a legtöbb rizsevő népnél a friss rizs ára ősidők óta magasabb, mint az 1 évesé, a tapasztalati úton, ösztönösen felismert tápértékcsökkenés miatt. A hevített rizs tápértékcsökkenést hosszú tárolás után sem mutat, állandó vitamin tartalma miatt egyenértékű marad a frissen aratott rizzsel.

Kanyó Béla professzornak, Obermayer Ernőnek, és Koczor Ferencnek, továbbá Máthé Imre professzornak és Dóry Lajosnak vizsgálatainkkal kapcsolatban nyújtott szíves tanácsaikért ill. a küldött rizsmintákért köszönetünket fejezzük ki. A rizsminták havonkinti előhántolásáért és csiszolásáért Szombati Györgynek köszönetet mondunk.

Összefoglalás

Négy árasztott és egy szárazon termő hazai rizsmintán tanulmányoztuk a B₁-vitamin tartalom, valamint a peroxidáz és kataláz aktivitás változását másfél ill. egy évig. Az adatokat kéthavonként regisztráltuk. Egy alkalommal a fehérjefrakciók mennyiségét is meghatároztuk. Ismertettük a peroxidáz és a kataláz aktivitás módosított meghatározását. Eredmények:

1. A toklászban tárolt és közvetlen a meghatározások előtt előhántolt mintákban a peroxidáz és kataláz aktivitása parallel változik. A változások határozottan 1 éves ritmust mutatnak. Az aktivitások emelkedő szakaszában (októbertől ápriliséig) lebontási, csökkenési periódusában (áprilistől októberig) szintetikus folyamatok dominálnak a magban.

A B₁-vitamin tartalom változása szoros összefüggésben van az enzimyfolyamatok ritmikus változásával. A lebontási szakaszban (októbertől ápriliséig) a túlnyomórészt szabad vitamin egy része a megerősödött oxidációs folyamatok során elbomlik. A dominánsan szintetikus változások szakaszában (áprilistől októberig) a B₁-vitamin egy része kötött állapotba kerül és az oxidációs folyamatok csökkenése miatt változatlanul megmarad.

A fehérje és B₁-vitamin szintézise a növényben párhuzamos úton haladnak, így a rizs B₁-vitamin tartalma annál nagyobb, minél nagyobb a fehérje tartalma. Mindkettő mennyisége jelentősen megnövelhető szikes talajon való termesztéssel, vagy jarovizálás alkalmazásával.

A peroxidáz és kataláz aktivitás viszonyszáma az adott rizsmintára jellemző, de más talajtípus vagy jarovizálás hatására megváltoztatható.

A B₁-vitamin-vesztesség a tárolás első évében nagyobb (22.6%), mint a másodikban (15.9—19.5%). Azonos ideig tárolt rizsekben a vitamin-vesztesség annál nagyobb, minél nagyobb a peroxidáz aktivitása a katalázéhoz viszonyítva. A vesztesség a nagyobb fehérje tartalmú rizsekről kisebb.

2. A toklászban tárolt és meghatározás előtt csiszolt rizsben a vizsgált értékek alacsonyabbak és jelentősen függenek a csiszolás mértékétől.

3. A csiszolt vagy őrölt állapotban tárolt rizsekben és rizs-termékekben a B₁-vitamin elbomlása már nem szakaszosan, hanem úgyszólván lineárisan megy végbe, mivel a hiányzó, vagy őrléssel előlt csíra miatt az oxidáló enzimek tevékenysége nincs koordinálva. A vitamin-vesztesség a csiszolt állapotban tárolt ri-

zseknél mintegy 40%, az őrlőteknél 40—60% is lehet 1 év alatt. A peroxidáz és kataláz aktivitása itt csak 3—4 év tárolás után csökken gyakorlatilag nullára.

4. A toklászos rizs felhevítésével az oxidáló enzimek inaktíválódnak s a B₁-vitamin most már a csiszolt állapotban való tárolás folyamán is változatlanul megmarad. Ugyanígy megőrizhető a koptatási termékek, egyébként gyorsan csökkenő, magas B₁-vitamin tartalma is.

Érkezett : 1954. április 15.

I r o d a l o m

- [1] Aykroyd, W. R. et al. : Ind. Med. Res. Memoirs. 321. 1940.
- [2] Bach, A. : Fortschritte d. Naturwiss. Forschung. 1. 85. 1910.
- [3] Fekete, L. : Táplálkozás-egészségügyi szűrővizsgálatok technikája. Egészségügyi Könyvkiadó. Budapest. 1951.
- [4] Findlay, J. : Biochem. J., 17. 887. 1923.
- [5] Góth, E. : Vitaminok és hormonok. Novák Könyvkiadó. Budapest. 1942.
- [6] Higuchi, T. : Progr. Sci. Nutr. Japan., 3. 273. 1926.
- [7] Kik, M. C. & Williams, R. R. : Nat. Res. Council, Bull. 112. 1945.
- [8] Koolhaas, D. R. : Z. für Unt. d. Lebensmittel. 71. 38. 1936.
- [9] Kozmina, N. P. & Kretovics, V. L. : A gabona és lisztfeldolgozás biokémiája. Élelmiszeripari Könyvkiadó. Budapest. 1952.
- [10] Kuthy, S. & Juhász, B. : Biokémia. Mezőgazdasági Kiadó. Budapest. 1953.
- [11] Lózza, A. : Agrokémia és Talajtan. 2. 147. 1953.
- [12] Lózza, A. & Koller, K. : Kísérletes Orvostudomány. 5. 325. 1953.
- [13] Lózza, A. & Koller, K. : Kísérletes Orvostudomány. 6. 86. 1954.
- [14] Máthé, I. : Agrártudomány. 1. 5. 1949.
- [15] Máthé, I. : Agrártudomány. 2. 3. 1950.
- [16] Nagymihály, F. & Füleky, Gy. : Agrártudományi Egyetem Mezőgazdaságtudományi Karának Évkönyve. 22. 1950.
- [17] Oparin, A. I. & Zencsenko, V. A. : A Micsurini biológia biokémiai problémái. 70. Akadémiai Kiadó. Budapest. 1951.
- [18] Palladin, W. : Fortschritte d. Naturwiss. Forschung. 1. 253. 1910.
- [19] Pregl, F. : Quantitative organische Mikroanalyse. 3. 121. Springer Verlag Berlin. 1930.
- [20] Rubin, B. A. : A Micsurini biológia biokémiai problémái. 98. Akadémiai Kiadó. Budapest. 1951.
- [21] Shimoda, Y. et al. : Progr. Sci. Nutr. Japan. 3. 343. 1926.
- [22] Sós, J. : Magyar Néptáplálkozás. Magyar Orvosi Könyvkiadó. Budapest. 1942.
- [23] Sziszakjan, N. : Biokémia. 1. 301. 1936.
- [24] Vogel, H. : Chemie und Technik der Vitamine. Enke Verlag. Stuttgart. 1943.

ИЗМЕНЕНИЯ СОДЕРЖАНИЯ ВИТАМИНА В₁, А ТАКЖЕ АКТИВНОСТИ ПЕРОКСИДАЗЫ И КАТАЛАЗЫ В ВЕНГЕРСКИХ СОРТАХ РИСА ВО ВРЕМЯ ХРАНЕНИЯ

А. Ложа и К. Коллер

Институт Общественной Санитарии Университета Медицинских Наук, г. Сегед (Венгрия)

Резюме

Определялись содержание витамина В₁, а также деятельности пероксидазы и каталазы пяти образцов венгерских сортов риса. Определения производились промежутками времени по два месяца за период хранения в полтора года, соответственно один год. Четыре из пяти образцов выращены с наводнением, а один без наводнения в хозяйстве Пал-

ла г п у с т а. Фракции белков нами определялись лишь однажды, по прежнему нашему методу, основанному на микрометоде Киелдаля. Содержание витамина B_1 определялось измененным тиохромовым методом. Активность каталазы выражена в мг-ах разложившей перекиси водорода. Активность пероксидазы выражена в произвольной единице, т. е. в значениях экстинкции р-фенилен-динамина, окисленного ферментом. Нами получены следующие результаты:

1. Образцы хранились в цветочной пленке и непосредственно перед определением произведено предварительное лущение. В этих образцах активность пероксидазы и каталазы изменяется параллельно, а изменения показывают годовой ритм, т. е. максимумы обнаруживаются всегда в апреле, а минимумы в октябре. В период времени, когда активности ферментов усиливаются, в рисе преобладают процессы разложения, а когда уменьшаются, то на передний план выдвигаются синтетические процессы.

Изменения содержания витамина B_1 находятся в тесной связи с ритмичным изменением окислительных ферментных активностей. В период процессов разложения (с октября по апрель) преобладающая часть витамина B_1 присутствует в несвязном состоянии, а вследствие сильных окислительных процессов одна часть разлагается. В период синтетических процессов (с апреля по октябрь) около трети витамина B_1 переходит в связанное состояние. Вследствие небольшой деятельности окислительных ферментов содержание витамина B_1 остается неизменным.

Синтезы белков и витамина B_1 в растении происходят параллельно, итак чем выше содержание белков, тем выше и содержание витамина B_1 . Количество обоих может быть увеличено производством риса на засоленной почве или применением яровизации.

Активность пероксидазы, при сравнении с 100 единицами активности каталазы, дает величину, характерную для образца риса. Под влиянием производства на почвах другого типа или яровизации, эта величина изменяется.

Убытки витамина B_1 в первом году хранения больше (22,6%), чем во втором (15,9—19,5%). В рисах, хранимых в продолжение одинакового времени, убытки витамина B_1 тем больше, чем больше активность пероксидазы риса по сравнению с активностью каталазы. Убытки меньше в случае высшего содержания белков.

2. Образцы риса хранились в цветочной пленке и полировались непосредственно перед определением. В этих образцах риса содержание витамина B_1 , а также активность пероксидазы и каталазы, гораздо меньше, чем в образцах, предварительно лущенных; полученные величины в значительной мере зависят от меры полировки.

3. В образцах, хранимых в полированном или молотом виде, разложение витамина B_1 происходит линейно, а не периодически, т. к. зародыш отсутствует или был умертвлен размолотом и таким образом деятельность окислительных ферментов уже не координирована. В этих образцах активность пероксидазы и каталазы сокращается до нуля только при хранении в течение 3—4 лет. По этой причине убыток витамина B_1 в образцах, хранимых в полированном виде, за год доходит и до 40%, а в образцах, хранимых в молотом виде, доходит до 40—60%.

4. Подогревом пленочных образцов окислительные ферменты инактивизированы. В этих образцах содержание витамина B_1 осталось неизменным, даже при хранении в полированном виде. Применением этого метода можно сохранить высокое содержание витамина B_1 в помолах риса (отрубях).

Р и с у н о к 1.: Изменения содержания витамина B_1 во время хранения. По ординате: витамин B_1 в граммах на 100 г риса. По абсциссе: время хранения.

Р и с у н о к 2.: Изменения активности пероксидазы во время хранения. По ординате: величина экстинкции (произвольная единица). По абсциссе: время хранения.

Р и с у н о к 3.: Изменения активности каталазы во время хранения. По ординате: разложившая перекись водорода в мг. По абсциссе: время хранения.

В таблицах приводятся только данные от апреля и октября 1952 и 1953 гг.

Т а б л и ц а 1.: Изменения содержания витамина B_1 во время хранения. (1) Место произрастания и обозначение образцов. (2) Год сбора. (3) Почвенный тип. (4) Витамин B_1 в граммах на 100 г риса. (5) Луговая глина. (6) Засоленная почва. (7) Песок.

Т а б л и ц а 2.: Изменения деятельности пероксидазы и каталазы во время хранения. (1) Образцы. (2) Активность пероксидазы, выраженная в величинах экстинкции (произвольная единица). (3) Активность каталазы (разложившей перекиси водорода в мг).

Т а б л и ц а 3.: Количество белков и белковых фракций в г на 100 г риса. (1) Образцы. (2) Небелковый азот. (3) Сырой белок. (4) Чистый белок. (5) Альбумин. (6) Глобулин. (7) Пропламин. (8) Оризанин.

Changes during Storage in the Thiamin Content and in the Peroxydase and Catalase Activity of Rice in Hungary

A. LÓZSA and K. KOLLER

Public Health Institute of Medical University, Szeged (Hungary)

Summary

The thiamin content and the peroxydase and catalase activity of five Hungarian rice samples were determined every second month during storage for 12 and 18 months, respectively. Four samples originated from irrigated, and one from unirrigated soil. Protein fractions were investigated only in one case by our earlier described method based on micro Kjeldahl determination. The thiamin content was determined by our modified thiochrome method. The catalase activity is expressed in mgs. of the hydrogen peroxyde decomposed. The peroxydase activity is given in arbitrary units, i. e. in extinction values of p-phenylenediamine oxidised by this enzyme. The following results were obtained.

1. The rice samples had been stored unhusked and were not husked just until immediately before the determinations took place. In these samples peroxydase and catalase activities run parallel, and their changes showed an annual fluctuation, i. e. the maxima of activities appeared always in April, the minima in October. At the time when enzymatic activities increased, disintegration processes dominated in the rice, and when the activities decreased, synthesizing prevailed.

Changes in the thiamin content are strictly connected with the rythmical change in the activity of oxydising enzymes. In the period of disintegration processes (from October to April) most part of the thiamin appears in free state, and a part of it is destroyed due to the strong oxydising processes. In the period of synthesizing (from April to October) about one third part of thiamin is converted into a bound state. Owing to the weak activity of the oxydising enzymes the thiamin content remains stable. Syntheses of protein and thiamin are parallel iprocesses in the plant; thus when rice contains more protein, thiamin content is higher as well. The quantity of both ingredients can be increased considerably by growing rice in alkali soils, or by vernalisation.

The peroxydase activity related to 100 units of catalase activity give an index characteristic of the rice type. It alters, however, when rice is grown in other soil types or vernalised.

Loss of thiamin is greater in the first year of storage (22,6 per cent), than in the second one (15,9—19,5 per cent). In rice samples stored for the same time the loss of thiamin is greater when rice has a greater peroxydase activity related to the catalase one. The loss is not so great, if rice contains more protein.

2. Rice samples had been stored unhusked, and were not polished until immediately before the determinations. In these samples the thiamin content and the peroxydase and catalase activities were lower, than in prehusked ones, and the values obtained depended considerably on the degree of polishing.

3. In rice samples stored in polished or in ground state the breakdown of thiamin was linear and not periodic, since the germ was absent or destroyed by milling, thus the functions of oxydising enzymes were no longer coordinated. In these samples peroxydase and catalase activities disappeared only after 3—4 years of storage. For this reason, loss of thiamin may attain a value of 40 per cent in rice samples stored in polished state and of 40—60 per cent in those stored in milled state for one year.

4. On heating unhusked rice samples, the oxydising enzymes were inactivated. In these samples the thiamin content remained stable, even in the polished state, during storage. By this method, the very great thiamin content of milled products (bran) can be preserved as well.

Fig. 1. Change of thiamin content during storage. Ordinata: Thiamin content microgram in 100 g of rice. Abcissa: Duration of storage.

Fig. 2. Change of peroxydase activity during storage. Ordinata: Extinction value (arbitrary unit). Abcissa: Duration of storage.

Fig. 3. Change of catalase activity during storage. Ordinata: Decomposed hydrogen peroxyde mg. Abcissa: Duration of storage.

The tables show only the data obtained in April and in October, 1952 and 1953, respectively:

Table 1. Change of thiamin content during storage. (1) Place of production and file number of samples. (2) Date of harvesting. (3) Soil type. (4) Thiamin, microgram in 100 g of rice. (5) Meadow clay. (6) Alkali soil. (7) Sand.

Table 2. Change of peroxydase and catalase activity during storage. (1) Samples. (2) Peroxydase activity expressed in extinction values (arbitrary unit). (3) Catalase activity (decomposed hydrogen peroxyde, mg.).

Table 3. Quantity of protein and protein fractions as grams in 100 g of rice. (1) Samples. (2) Nonprotein-nitrogen (NPN). (3) Crude protein. (4) Pure protein. (5) Albumin. (6) Globulin. (7) Prolamin. (8) Oryzenin.