Zeitschrift: Mitteilungen aus dem Gebiete der Lebensmitteluntersuchung und Hygiene = Travaux de chimie alimentaire et d'hygiène

Herausgeber: Bundesamt für Gesundheit

Band: 80 (1989)

Heft: 2

Artikel: Bestimmung der Aktivitäten von N-acetyl-ß-D-glucosaminidase, Lysozym, Katalase und -Amylase in Hühnereier-Eiweiss = Determination of the activity of N-acetyl-ß-D-glucosaminidase, lysozyme, catalase and -amylase in chicken egg white

Autor: Jäckle, Margrit / Amadò, R. / Schmidt-Lorenz, W.

DOI: https://doi.org/10.5169/seals-983600

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften auf E-Periodica. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Zeitschriften und ist nicht verantwortlich für deren Inhalte. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern beziehungsweise den externen Rechteinhabern. Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen sowie auf Social Media-Kanälen oder Webseiten ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Mehr erfahren

Conditions d'utilisation

L'ETH Library est le fournisseur des revues numérisées. Elle ne détient aucun droit d'auteur sur les revues et n'est pas responsable de leur contenu. En règle générale, les droits sont détenus par les éditeurs ou les détenteurs de droits externes. La reproduction d'images dans des publications imprimées ou en ligne ainsi que sur des canaux de médias sociaux ou des sites web n'est autorisée qu'avec l'accord préalable des détenteurs des droits. En savoir plus

Terms of use

The ETH Library is the provider of the digitised journals. It does not own any copyrights to the journals and is not responsible for their content. The rights usually lie with the publishers or the external rights holders. Publishing images in print and online publications, as well as on social media channels or websites, is only permitted with the prior consent of the rights holders. Find out more

Download PDF: 09.12.2025

ETH-Bibliothek Zürich, E-Periodica, https://www.e-periodica.ch

Mitt. Gebiete Lebensm. Hyg. **88**, 137–161 (1989)
Eingegangen 15. März 1989. Angenommen 10. April 1989

Bestimmung der Aktivitäten von N-Acetyl-ß-D-glucosaminidase, Lysozym, Katalase und α-Amylase in Hühnereier-Eiweiss

Determination of the Activity of N-Acetyl-ß-D-glucosaminidase, Lysozyme, Catalase and α-Amylase in Chicken Egg White

Margrit Jäckle, R. Amadò und *W. Schmidt-Lorenz*
Institut für Lebensmittelwissenschaft, Eidg. Technische Hochschule, Zürich

Einleitung

Industriell hergestellte Eiprodukte müssen aus Gründen der hygienischen Sicherheit unmittelbar nach dem Aufschlagen der Schaleneier pasteurisiert werden. Durch das angewandte Erhitzungsverfahren sind alle allfällig vorhandenen pathogenen Bakterien, insbesondere Salmonellen, sicher zu inaktivieren. Nach Artikel 174 Absatz 3 der eidg. Lebensmittelverordnung mit Stand vom 1. Januar 1988 (1) dürfen «Eier und Eiprodukte als pasteurisiert bezeichnet werden, wenn durch eine Hitzebehandlung alle vegetativen pathogenen Keime so reduziert sind, dass die Toleranz- und Grenzwerte der Verordnung des EDI vom 1. Juli 1987 über die hygienisch-mikrobiologischen Anforderungen an Lebensmittel, Gebrauchs- und Verbrauchsgegenstände nicht überschritten werden».

Die dazu notwendigen quantitativen kulturellen mikrobiologischen Untersuchungen sind aber immer relativ arbeits- und zeitaufwendig. Raschere Ergebnisse sind mit dem Nachweis der Inaktivierung bestimmter Enzyme in den Eiprodukten als Mass für eine ausreichende Hitzepasteurisation erreichbar. In vorausgegangenen Untersuchungen (2, 3) wurde gezeigt, dass bei Vollei und Eigelb die Bestimmung der α-Amylase-Aktivität für den Nachweis einer erfolgten Pasteurisation gut geeignet ist.

Für Hühnereier-Eiweiss gibt es bisher noch keine praktikablen enzymatischen Methoden für den Erhitzungsnachweis. *Henderson* und *Robinson* (4) prüften die Inaktivierung von N-Acetyl-ß-D-glucosaminidase, Lysozym, Katalase und α-Mannosidase und fanden keines der Enzyme zur Kontrolle einer ausreichenden Pasteurisation geeignet. Auch der α-Amylase-Test wurde von ihnen als unbrauchbar beurteilt, weil die α-Amylase in Eiweiss nur geringe Aktivität hat und zudem durch die niedrigen Temperaturen, die für die Eiweisspasteurisation ausreichen, nicht geschädigt wird.

Im Gegensatz dazu bewerteten *Imai* (5) und *Monsey* und *Jones* (6) den α-Amylase-Test zur Unterscheidung von unpasteurisiertem und hitzebehandeltem Eiweiss als tauglich. *Donovan* und *Hansen* (7) beurteilten die Inaktivierung der N-Acetyl-ß-D-glucosaminidase als Mass für eine genügende Pasteurisation in Eiweiss mit einem pH-Wert von 7,0 als geeignet. Sie wiesen aber darauf hin, dass die Anwendbarkeit des Tests für Eiweiss mit einem pH-Wert von 9,0 noch der Klärung bedarf.

In der vorliegenden Arbeit werden die bisher bekannten Methoden für die Bestimmung der Aktivitäten von N-Acetyl-ß-D-glucosaminidase, Lysozym, Katalase und α-Amylase in Hühnereier-Eiweiss auf ihre Eignung zur Kontrolle einer ausreichenden Pasteurisation kritisch geprüft und im Hinblick auf einfache und rasche Durchführbarkeit modifiziert.

Material und Methoden

Eiprodukte

- Schaleneier der Provenienzen Bundesrepublik Deutschland (BRD), Tschechoslowakei, Finnland, Frankreich, Holland, Schweiz (CH), Spanien und Ungarn; Klasse: A; Gewicht: 52–64 Gramm; Alter: 2–3 Monate
- Abreiben der Eischalen mit 3%iger Formaldehydlösung vor dem Aufschlagen
- Gewinnung der Eiweissmasse durch manuelles Aufschlagen der Schaleneier und sorgfältige manuelle Trennung von Eiweiss und Eigelb
- Homogenisation der Eiweissmasse mit Stomacher (Colworth Stomacher 400, Fa. Seward, Burg St. Edmunds, UK) während zwei Minuten
- Industriell aufgeschlagene, unpasteurisierte Eiweissprodukte gekühlt (+ 4 °C) in 2-kg-Karton angeliefert bis 24 Stunden nach Herstellung im Erzeugerbetrieb

Bestimmung der Aktivitäten von N-Acetyl-ß-D-glucosaminidase, Lysozym, Katalase und α-Amylase

N-Acetyl-ß-D-glucosaminidase

- Nach einer modifizierten Methode von *Donovan* und *Hansen* (8) mit 4-Nitrophenyl-N-acetyl-ß-D-glucosaminid (SIGMA N 9376) als Substrat
- Testdurchführung
  Messwellenlänge: 400 nm; Schichtdicke der Küvetten: 1 cm; Inkubationstemperatur: 44 ± 0,1 °C; Inkubationsdauer: 30 Minuten; Probevolumen: 0,3 ml; Inkubationsvolumen: 0,75 ml; Messvolumen: 1,5 ml; Messung: gegen destilliertes Wasser

In Reagenzröhrchen pipettieren	Probe (ml)	Leerwert (ml)
2,5 mM 4-Nitrophenyl-N-acetyl-ß-D-glucosaminid / 0,1 m Citratpuffer (pH 3,0) Probe: 5%ige Eiweisslösung	0,45 0,3	0,45 –
– Mischen auf Reagenzglasschüttler – Inkubation im Thermostat-Wasserbad bei 44 ± 0,1 °C für 30 Minuten		
0,2 m Na_2Co_3-Lösung Probe: 5%ige Eiweisslösung	0,75 –	0,75 0,3

– Berechnung der Aktivität in U l^{-1} nach photometrischer Messung (Uvikon 810, Fa. Kontron, Zürich, CH) der pro Zeiteinheit freigesetzten Menge 4-Nitrophenol in alkalischer Lösung bei 400 nm (Extinktionskoeffizient von 4-Nitrophenol ε = 1,39 l $mmol^{-1}$ cm^{-1}) (9).

Lysozym

– Nach modifizierten Methoden von *Sigma* (10) und *Weisner* (11) mit einer Suspension von *Micrococcus lysodeikticus* (SIGMA M 0128) als Substrat
– Testdurchführung
Messwellenlänge: 450 nm; Schichtdicke der Küvetten: 1 cm, Inkubationstemperatur: 25 ± 0,1 °C; Inkubationsdauer (*t*): 30 Minuten; Probevolumen *(v)*: 0,1 ml; Inkubationsvolumen: 2,6 ml; Messvolumen *(v)*: 2,8 ml; Messung: gegen destilliertes Wasser

In Reagenzröhrchen pipettieren	Probe (ml)	Leerwert (ml)
0,2 g l^{-1} *Micrococcus lysodeikticus* in 0,067 m Phosphat-/ 0,0154 m NaCl-/0,008 m Azidpuffer (pH 6,3) Probe: 0,1%ige Eiweisslösung	2,5 0,1	2,5 –
– Mischen auf Reagenzglasschüttler – Inkubation im Thermostat-Wasserbad bei 25 ± 0,1 °C für 30 Minuten		
0,5 m NaOH-Lösung Probe: 0,1%ige Eiweisslösung	0,2 –	0,2 0,1

– Aufgrund der von *Sigma* (10) gegebenen Definition einer Einheit *(U)* als $\Delta E_{450}/t = 0{,}001\ \text{min}^{-1}$ Berechnung der Lysozym-Aktivität nach photometrischer Messung der pro Zeiteinheit erfolgten Trübungsabnahme der Suspension von *Micrococcus lysodeikticus* nach der Formel:

$$U\,l^{-1} = \frac{\Delta E\,/\,t \times 1000}{0{,}001 \times v/V} = \frac{\Delta E\,/\,30 \times 1000}{0{,}001 \times 0{,}0001\,/\,2{,}8}$$

Katalase

– Nach einer modifizierten Methode von *Boehringer* (12) zur Cholesterinbestimmung mit H_2O_2 als Substrat sowie Methanol und Acetylaceton als Reaktionsteilnehmer (alle Chemikalien p. a. Qualität) nach folgendem Prinzip:

$$\text{Methanol} + H_2O_2 \xrightarrow{\text{Katalase}} \text{Formaldehyd} + 2\ H_2O$$

$$\text{Formaldehyd} + NH_4^+ + 2\ \text{Acetylaceton} \longrightarrow \text{Lutidinfarbstoff} + 3\ H_2O$$

– Testdurchführung
Messwellenlänge: 405 nm; Schichtdicke der Küvetten: 1 cm; Inkubationstemperatur: 44 ± 0,1 °C; Inkubationsdauer: 30 Minuten; Probevolumen: 0,5 ml; Inkubationsvolumen: 6 ml; Messvolumen: 7 ml; Messung: gegen destilliertes Wasser

In Reagenzröhrchen pipettieren	Probe (ml)	Leerwert (ml)
2,1 m Methanol/0,03 M Acetylaceton/ 0,5 m NH_4-Phosphatpuffer (pH 7,0) Probe: Eiweiss unverdünnt	 4,5 0,5	 4,5 0,5
– Vorinkubation im Thermostat-Wasserbad bei 44 ± 0,1 °C für 5 Minuten		
5,5 mM H_2O_2-Lösung	1,0	–
– Mischen auf Reagenzglasschüttler – Inkubation bei 44 ± 0,1 °C für 45 Minuten		
0,1 m NaOH-Lösung 5,5 mM H_2O_2-Lösung	1,0 –	1,0 1,0
– Zentrifugation der Lösung bei 1500 g für 10 Minuten		

– Berechnung der Aktivität in U l^{-1} nach photometrischer Messung der pro Zeiteinheit entstehenden Menge Lutidinfarbstoff bei 405 nm (Extinktionskoeffizient des gelben Lutidinfarbstoffes $\varepsilon = 7{,}4$ l $mmol^{-1}$ cm^{-1})

α-Amylase

– Nach einer modifizierten Methode von *Jäckle* und *Geiges* (13) mit dem Phadebas^R-Amylase-Test (Pharmacia, Batch No. LB 78299)
– Testdurchführung
Messwellenlänge: 620 nm; Schichtdicke der Küvetten: 1 cm; Inkubationstemperatur: 44 ± 0,1 °C; Inkubationsdauer: 60 Minuten; Probevolumen: 0,5 ml; Inkubationsvolumen: 4 ml; Messvolumen: 5 ml; Messung: gegen destilliertes Wasser

In Zentrifugenröhrchen pipettieren bzw. zugeben	Probe (ml)	Probeleerwert (ml)
destilliertes Wasser Phadebas^R-Tablette	3,5 1	3,5 1
– Mischen auf Reagenzglasschüttler für 10 Sekunden – Vorinkubation im Thermostat-Wasserbad bei 44 ± 0,1 °C für 5 Minuten		
Probe: Eiweiss unverdünnt	0,5	–
– Mischen auf Reagenzglasschüttler – Inkubation bei 44 ± 0,1 °C für 60 Minuten		
0,5 m NaOH-Lösung Probe: Eiweiss unverdünnt	1,0 –	1,0 0,5
– Trennung der gefärbten Lösung vom unlöslichen Rückstand durch Zentrifugation bei 1500 g für 10 Minuten – Messung der Extinktion des Überstandes bei 620 nm gegen destilliertes Wasser – Subtraktion der Extinktion des Probeleerwertes von den gemessenen Probewerten – Ablesung und Berechnung der Aktivitätswerte aus der Eichkurve, die jeder Phadebas^R-Amylase-Testpackung beigefügt ist		

– Berechnung der Aktivität in U l^{-1} durch Multiplikation des aus der Eichkurve abgelesenen Wertes mit dem Faktor (5/5,2 × 0,2/0,5 × 15/60) 0,096, da die

Standardkurve für ein Messvolumen von 5,2 ml, ein Probevolumen von 0,2 ml sowie eine Inkubationsdauer von 15 Minuten gilt.

Resultate

Bestimmung der N-Acetyl-ß-D-glucosaminidase-Aktivität in Eiweiss

Der Einfluss der Inkubationstemperatur auf die Aktivität der N-Acetyl-ß-D-glucosaminidase wurde bei einer Eiweissprobe mit einem pH-Wert von 9,1, hergestellt aus fünf Schaleneiern der Provenienz BRD in Konzentrationen von 5 bis 30% im Probevolumen nach Inkubation bei Temperaturen zwischen 38 und 70 °C bestimmt (Abb. 1).

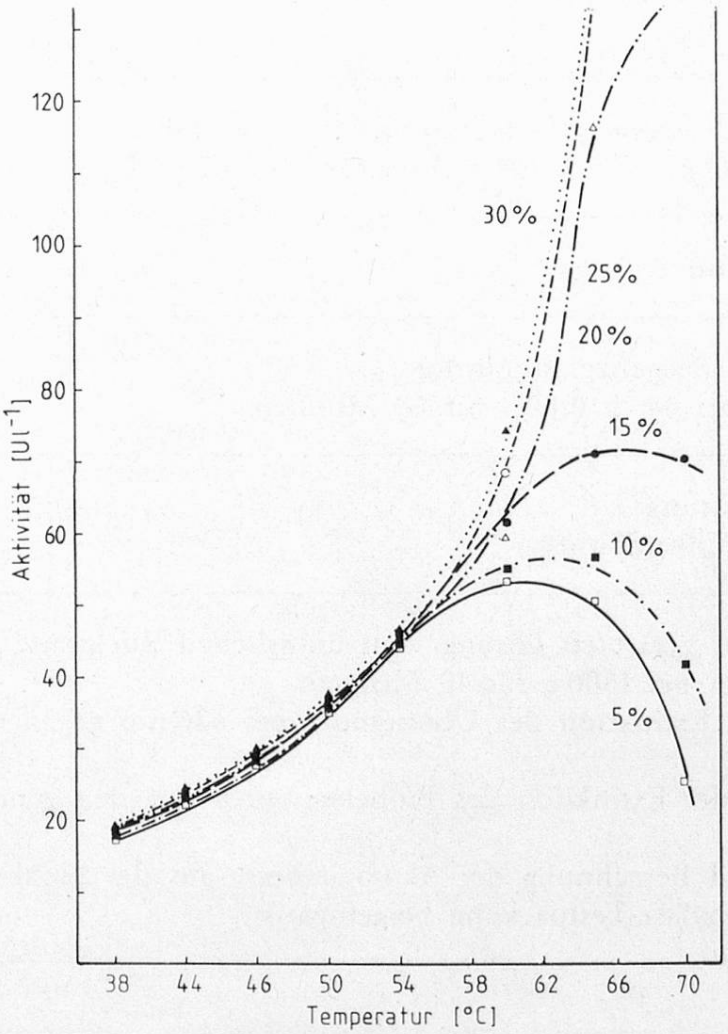

Abb. 1. N-Acetyl-ß-D-glucosaminidase-Aktivität in 5- bis 30%igen Eiweisslösungen in Abhängigkeit von der Inkubationstemperatur

Zwischen 38 und 56 °C war unabhängig von der angewandten Eiweissmenge eine exponentielle Zunahme der Aktivität mit Werten von 18 bis 50 U l^{-1} zu verzeichnen. Bei Proben mit 5, 10 und 15% Eiweiss lagen die Aktivitätsoptima bei 60, 63 bzw. 66 °C mit Werten von 53, 56 bzw. 71 U l^{-1}. Bei weiterer Temperaturerhöhung erfolgte dann in den 5- und 10%igen Eiweisslösungen eine ausgeprägte, in der 15%igen Lösung eine schwächere Abnahme der Aktivität. Im Gegensatz dazu nahmen bei den 20-, 25- und 30%igen Eiweisslösungen bei Temperaturen über 60 °C die Enzymaktivitäten mit steigenden Temperaturen rasch zu. Alle nachfolgenden Untersuchungen wurden bei einer Inkubationstemperatur von 44 °C durchgeführt.

In Tabelle 1 sind die in Eiweissproben am Tag des Aufschlagens sowie nach ein- und viertägiger Lagerung bei +4 °C bestimmten Enzymaktivitäten und pH-Werte bei zwei Schaleneiern unbekannten Alters (ca. 2 bis 3 Monate) der Provenienz BRD und sechs neun Tage alten Schweizer Eiern aufgeführt.

Tabelle 1. Aktivität der N-Acetyl-ß-D-glucosaminidase in U l^{-1} und die pH-Werte in 8 Eiweissproben am Tag des Aufschlagens (= 100%) der Schaleneier sowie nach ein- und viertägiger Lagerung bei 4 °C

Schaleneier der	ph-Wert und Aktivität der N-Acetyl-ß-D-glucosaminidase							
	am Aufschlagtag		nach 1 d Lagerung			nach 4 d Lagerung		
	pH	U l^{-1}	pH	U l^{-1}	(%)	pH	U l^{-1}	(%)
BRD	9,07	15,0	9,23	9,5	(62)	9,28	5,0	(33)
BRD	8,90	333,6	9,05	230,8	(69)	9,18	207,8	(62)
CH	8,94	379,3	9,10	273,6	(72)	9,12	138,2	(36)
CH	8,95	437,7	9,03	355,5	(81)	9,09	212,3	(49)
CH	8,96	477,5	9,13	346,2	(73)	9,16	193,2	(41)
CH	8,96	513,5	9,15	385,8	(75)	9,18	256,5	(50)
CH	8,90	543,0	9,03	541,4	(99)	9,13	309,5	(57)
CH	8,90	602,0	9,05	569,2	(95)	9,13	334,9	(56)

Bereits nach eintägiger Lagerung war mit Werten zwischen 62 und 99% der Ausgangsaktivität eine Abnahme der Enzymaktivität zu registrieren. Der Aktivitätsverlust setzte sich im Verlaufe der Lagerung weiter fort, so dass am vierten Tag nach dem Aufschlagen nur noch 33 bis 62% der ursprünglich vorhandenen Aktivität zu verzeichnen waren. In der gleichen Zeit nahmen die pH-Werte von 8,9 bis 9,07 am Aufschlagstag auf 9,03 bis 9,23 bzw. 9,09 bis 9,28 nach ein- bzw. viertägiger Lagerung zu.

Abbildung 2 zeigt die Aktivität der N-Acetyl-ß-D-glucosaminidase im Eiweiss von 25 Schaleneiern unterschiedlicher Provenienzen.

Das Alter der Eier war mit Ausnahme von fünf neun Tage alten, direkt aus einem einheimischen Betrieb bezogenen Eiern nicht genau feststellbar und wurde

vom Eierlieferanten für die einheimischen Eier mit ca. 9 Tagen und für die importierten mit ca. zwei Monaten angegeben.

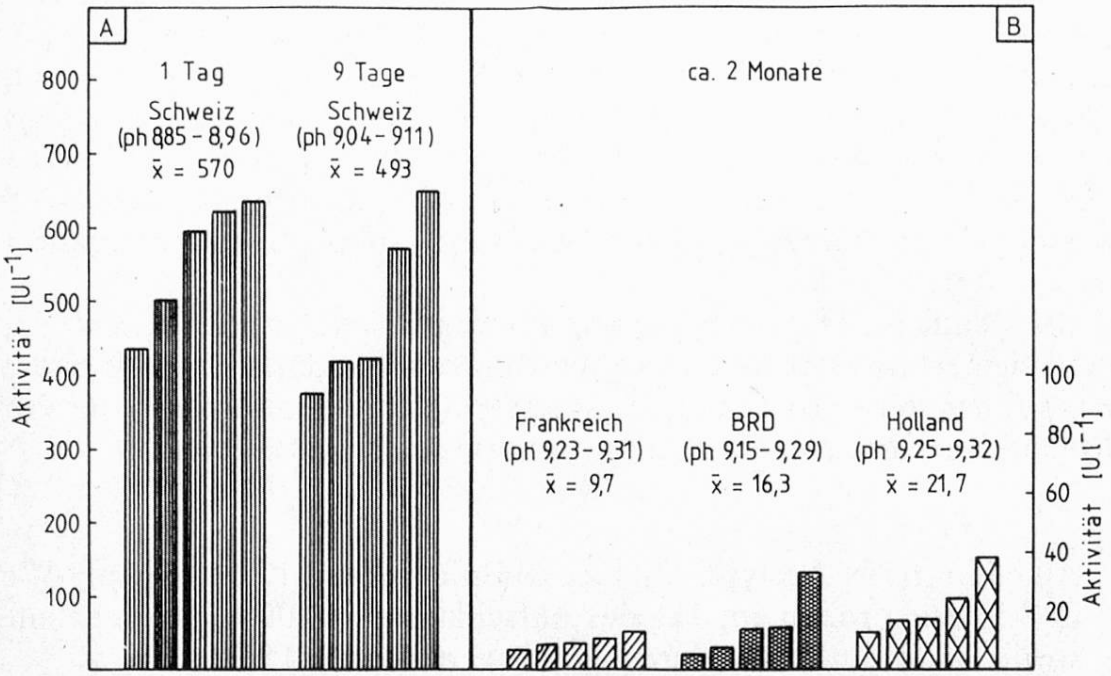

Abb. 2. N-Acetyl-ß-D-glucosaminidase-Aktivität in Eiweiss von 25 Schaleneiern vier verschiedener Provenienzen: A) 1 bzw. 9 Tag(e); B) ca. 2 Monate alt

In den ein und neun Tage alten Schweizer Eiern lagen die Enzymaktivitäten zwischen 436 und 651 U l^{-1} bei pH-Werten zwischen 8,85 und 8,96 bei den eintägigen und zwischen 9,04 und 9,11 bei den 9 Tage alten Eiern. Dagegen wurden im Eiweiss der Importeier wesentlich geringere Aktivitäten mit Werten zwischen 6 und 38 l^{-1} bestimmt. Die pH-Werte lagen zwischen 9,23 und 9,32. Auch innerhalb einer Provenienz waren bei den einzelnen Eiern erhebliche Aktivitätsunterschiede gegeben.

Bestimmung der Lysozym-Aktivität in Eiweiss

Zur Ermittlung der Relation zwischen Enzymaktivität und Eiweisskonzentration wurden die Lysozym-Aktivitäten in Eiweissproben von 0,1 und 0,5% sowie in einem Lysozym-Präparat aus Hühnereiern in Konzentrationen von 1,5 und 10% ($4{,}12 \times 10^7$ U l^{-1}, Sigma L-6876, 10- und 100fach mit Phosphatpuffer (pH 6,3) verdünnt) vergleichend bestimmt. Für den Probeleerwert wurde anstelle der Enzym- bzw. Eiweisslösung Phosphatpuffer eingesetzt. In Abbildung 3 sind die während 30 Minuten in Intervallen von 30 Sekunden bei 450 nm gemessenen Extinktionen der Lösungen dargestellt.

Ein linearer Kurvenverlauf der Extinktionen während der gesamten Inkubationsdauer von 30 Minuten war nur beim Probeleerwert und den Proben mit 1% Lysozym und 0,1% Eiweiss zu registrieren.

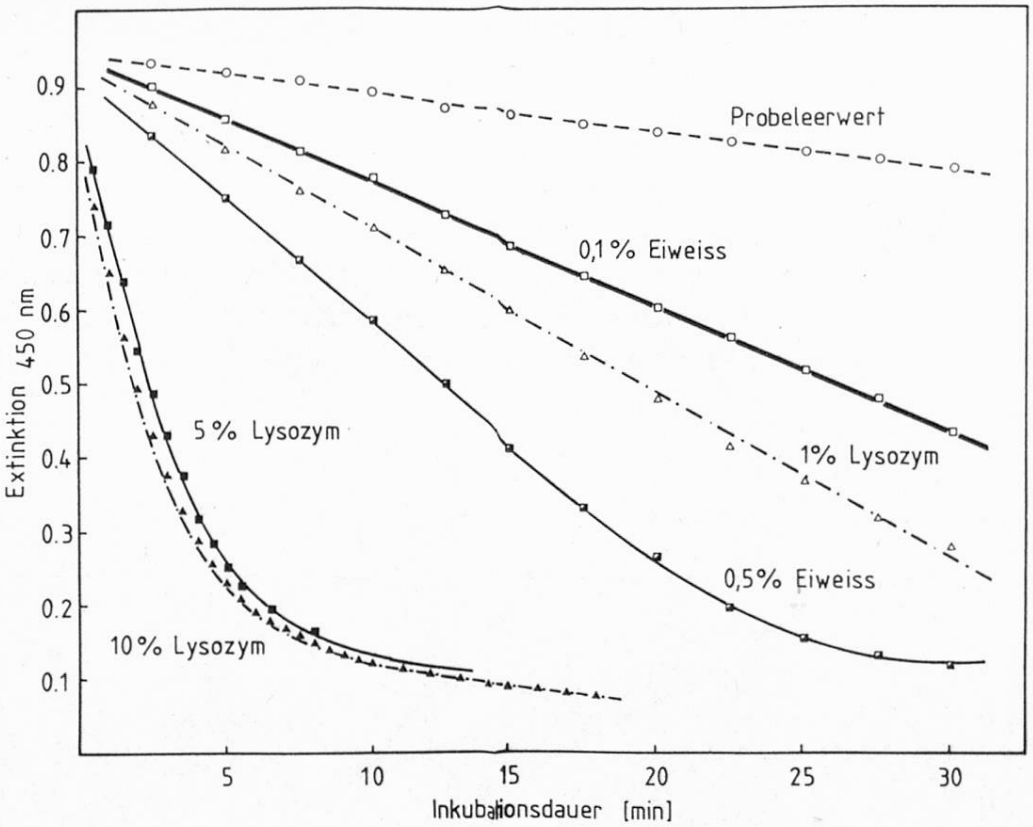

Abb. 3. Extinktionswerte bei 450 nm in Abhängigkeit von der Inkubationsdauer bei Bestimmung der Lysozym-Aktivitäten in unterschiedlich konzentrierten Lysozym- und Eiweisslösungen

Tabelle 2. Regressionsgerade für die Bestimmung der Lysozym-Aktivität in Abhängigkeit von der Eiweisskonzentration

Lysozym- bzw. Eiweisskonzentration im Probevolumen	linearer Bereich von (min)	Parameter der Regressionsgeraden		
		a	b	*r (n)*
Probeleerwert	2,5–30	0,944	–0,0055	–0,999 (12)
Proben				
Lysozym 1,0%	2,5–30	0,928	–0,0222	–0,999 (12)
Lysozym 10,0%	0,5– 2	0,818	–0,1648	–0,998 (4)
Eiweiss 0,1%	2,5–30	0,942	–0,0171	–0,999 (12)
Eiweiss 0,5%	2,5–17,5	0,919	–0,0337	–0,999 (7)
Eiweiss 5,0%	0,5– 3,5	0,860	–0,1478	–0,997 (7)

Zur Bestimmung der Lysozym-Aktivitäten waren bei den gewählten Testbedingungen nur 0,1%ige Eiweisslösungen geeignet.

Zur Ermittlung des Einflusses der Substrat-Konzentration auf die Extinktionswerte wurden 1,1 bis 55,0 mM H_2O_2-Lösungen mit Probevolumina von 0 bis 1,0 ml einer unverdünnten Eiweissprobe, hergestellt aus fünf Schaleneiern der Provenienz BRD, wie vorn beschrieben inkubiert. Wie Abbildung 4 zeigt, war bei Probevolumina von 0,5 ml und mehr sowie einer H_2O_2-Konzentration von 5,5 mM eine optimale Extinktionsdifferenz gegeben, so dass in allen weiteren Untersuchungen diese Konzentration angewandt wurde.

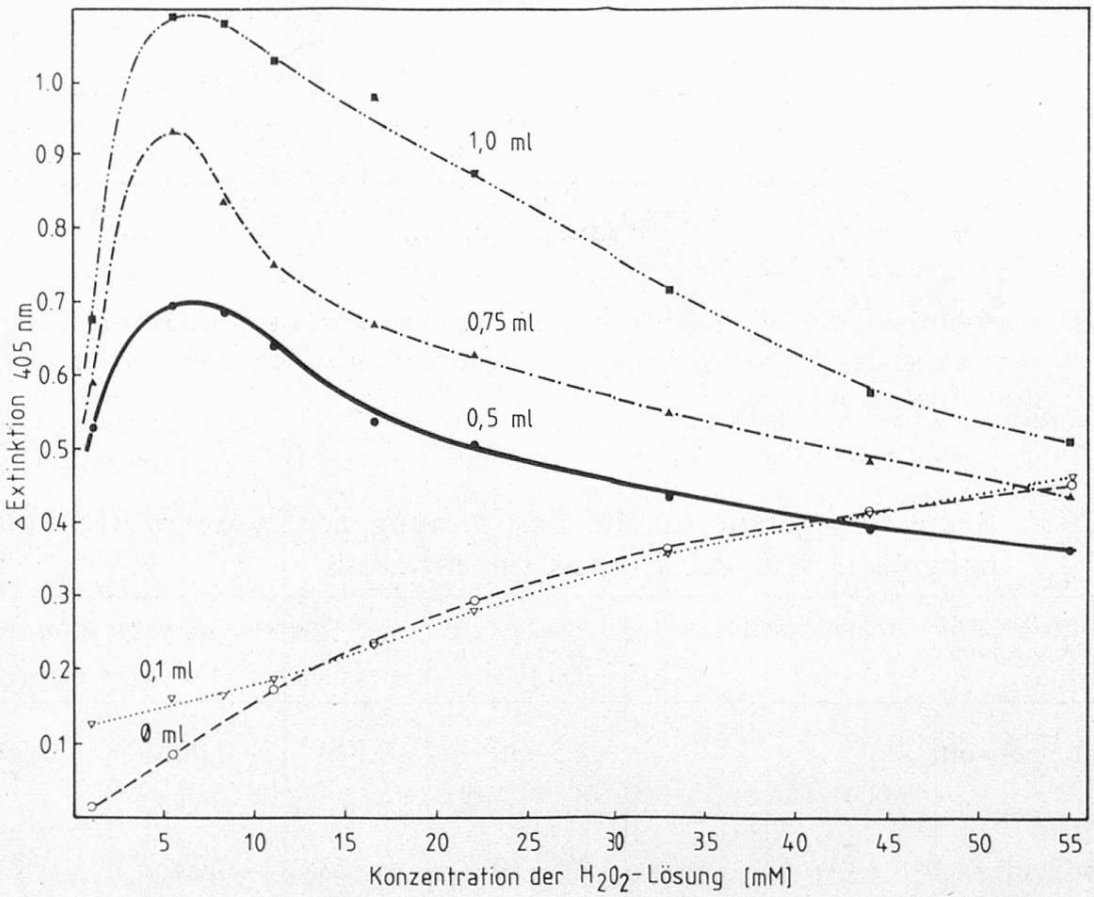

Abb. 4. Extinktionswerte bei 405 nm in Abhängigkeit von der Konzentration der H_2O_2-Lösung bei Bestimmung der Katalase-Aktivitäten in Eiweissproben unterschiedlichen Volumens

Der Einfluss der Inkubationsdauer auf die Extinktionswerte bei fünf Eiweissproben (A–E) unterschiedlicher Enzymaktivität ist in Abbildung 5 dargestellt. Die daraus berechneten Aktivitätswerte sind in Abbildung 6 wiedergegeben.

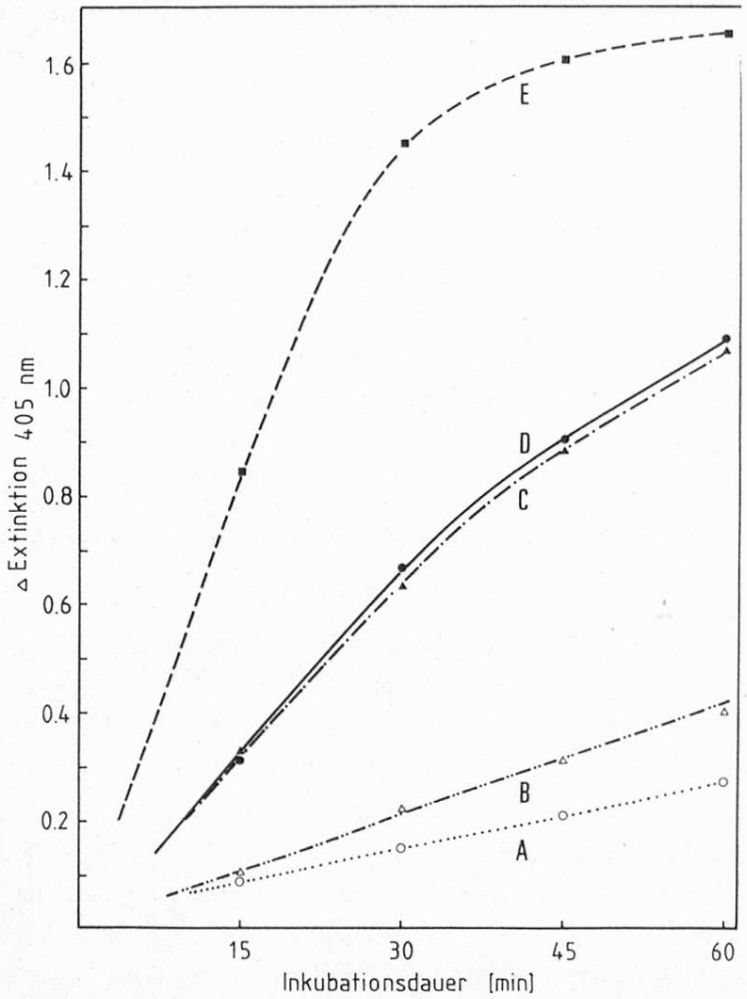

Abb. 5. Einfluss der Inkubationsdauer auf die Extinktionswerte bei 405 nm bei Bestimmung der Katalase-Aktivität bei fünf Eiweissproben A–E unterschiedlicher Aktivität

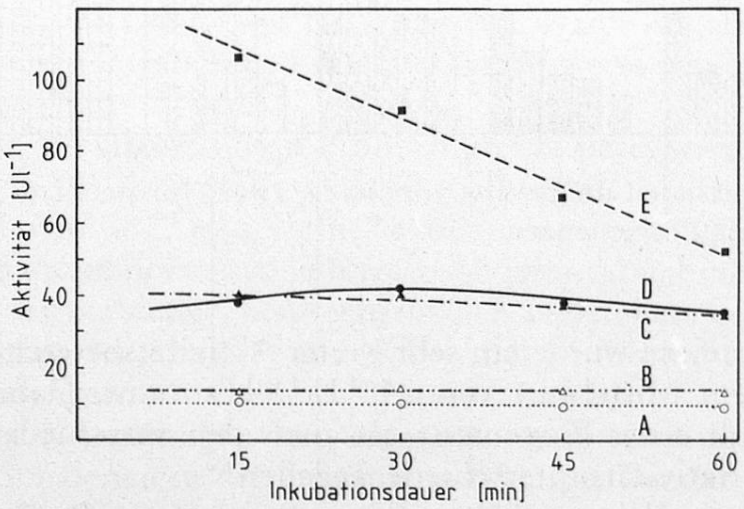

Abb. 6. Katalase-Aktivitäten in den fünf Eiweissproben A–E aus Abb. 5

Bei den vier Eiweissproben (A–D) mit Aktivitäten zwischen 9 bis 38 U l^{-1} verliefen die Extinktionskurven bis zu ΔE-Werten von 0,8 bis 1,0 linear, entsprechend einer Inkubationsdauer von 45 bis 60 Minuten. Die Kurve der Probe E mit deutlich höherer Aktivität zeigte nur bis zu einer Inkubationsdauer von rund 15 Minuten Linearität, wie es auch die rasche Abnahme der berechneten Aktivität bei längerer Inkubation in Abbildung 6 zeigt. In allen weiteren Versuchen wurde daher eine Inkubationszeit von 30 min angewandt. Nur bei sehr hohen Aktivitäten musste weniger lang inkubiert werden.

Abbildung 7 zeigt die bei 30 Schaleneiern unterschiedlicher Provenienzen und Abbildung 8 die bei industriell hergestellten Eiweissmassen bestimmten Katalase-Aktivitäten im Eiweiss.

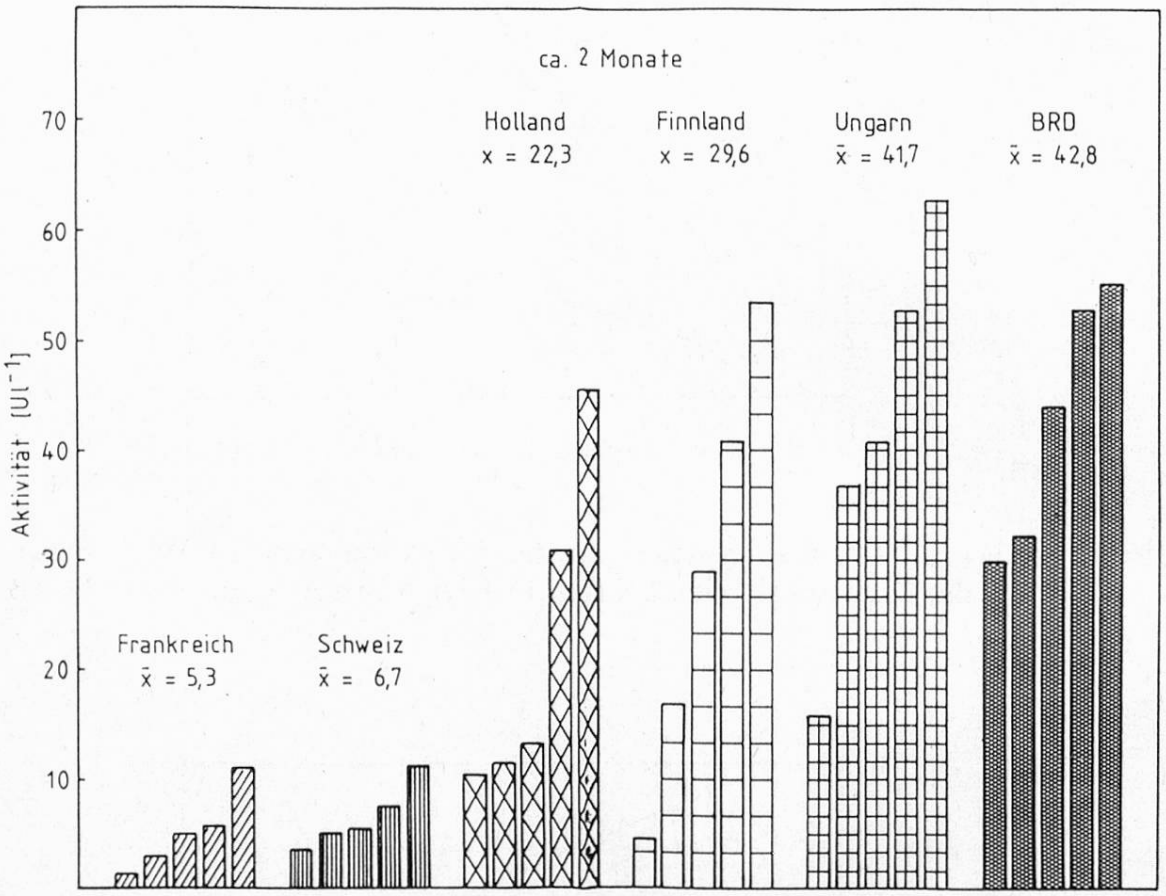

Abb. 7. Katalase-Aktivitäten im Eiweiss von 30 ca. zwei Monate alten Schaleneiern sechs verschiedener Provenienzen

Bei den Schaleneiern wurde ein sehr weiter Aktivitätsbereich zwischen 1,4 bis 62,8 U l^{-1} mit einem Mittelwert von 24,7 U l^{-1} bestimmt. Dabei waren sowohl zwischen den Eiern einer Provenienz als auch den verschiedenen Herkünften sehr ausgeprägte Aktivitätsunterschiede gegeben.

In den 15 industriell hergestellten Eiweissmassen wurden bei einem Mittelwert von 29,6 U l^{-1} Aktivitäten zwischen 18,7 und 41,1 U l^{-1} bestimmt.

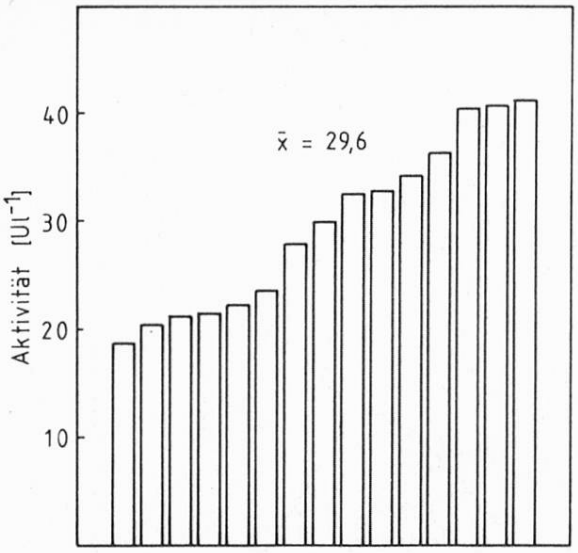

Abb. 8. Katalase-Aktivitäten in 15 industriell hergestellten Eiweissmassen

Bestimmung der α-Amylase-Aktivität in Eiweiss

In einer ersten Versuchsreihe wurden unterschiedliche Probevolumina von 0,5 bis 3,5 ml einer Eiweissmischung, hergestellt aus fünf Schaleneiern der Provenienz BRD, entsprechend der in vorliegendem Bestimmungsansatz angegebenen Reihenfolge mit vorgängiger Quellung der Testtablette (dest. Wasser + Testtablette – Vorinkubation – Eiweissprobe – Inkubation) bei 44 °C für 60 Minuten inkubiert. Parallel dazu wurden Ansätze mit derselben Eiweissprobe und sonst gleichen Bedingungen nach der von der Herstellerfirma (14) angegebenen Methode ohne Quellung der Testtablette (dest. Wasser + Eiweissprobe – Vorinkubation – Testtablette – Inkubation) inkubiert (Abb. 9).

In beiden Fällen zeigten die Kurven der Extinktionswerte (Abb. 9A) ein deutliches Optimum. Bei Zugabe der Testtablette vor der Vorinkubation nahmen die Extinktionswerte von 1,345 bei 0,5 ml bis 3,24 bei 2,0 ml zu und fielen dann bei noch höheren Probevolumina auf 1,96 bei 3,5 ml ab (bei Extinktionen über 2,0 wurde der Überstand 1:1 verdünnt und zur Berechnung der Aktivitäten der gemessene Extinktionswert mit zwei multipliziert). Nach Zugabe der Testtablette erst nach der Vorinkubation, lagen die Extinktionswerte insgesamt deutlich tiefer.

Die daraus für die angewandten Probevolumina berechneten Aktivitätswerte sind in Abbildung 9B dargestellt. Nach Quellung der Testtablette wurde die höchste Aktivität von 78 U l^{-1} bei einer Probemenge von 0,5 ml bestimmt und mit Zunahme der Probemengen eine lineare Aktivitätsabnahme verzeichnet. Ohne Quellung der Testtablette entsprechend den Herstellerangaben (14) erfolgte zunächst ein Anstieg der Aktivität auf 37 U l^{-1} bei 1,5 ml und danach mit zunehmenden Eiweissmengen ein ebenfalls linearer Abfall.

Die Aktivitätsbestimmungen bei einer weiteren unverdünnten Eiweissmischung aus fünf Schaleneiern der Provenienz BRD bei Inkubationstemperaturen zwischen 36 und 60 °C mit Quellung der Testtablette ergaben ein deutliches Optimum der α-Amylase-Aktivität zwischen 48 und 52 °C (Abb. 10).

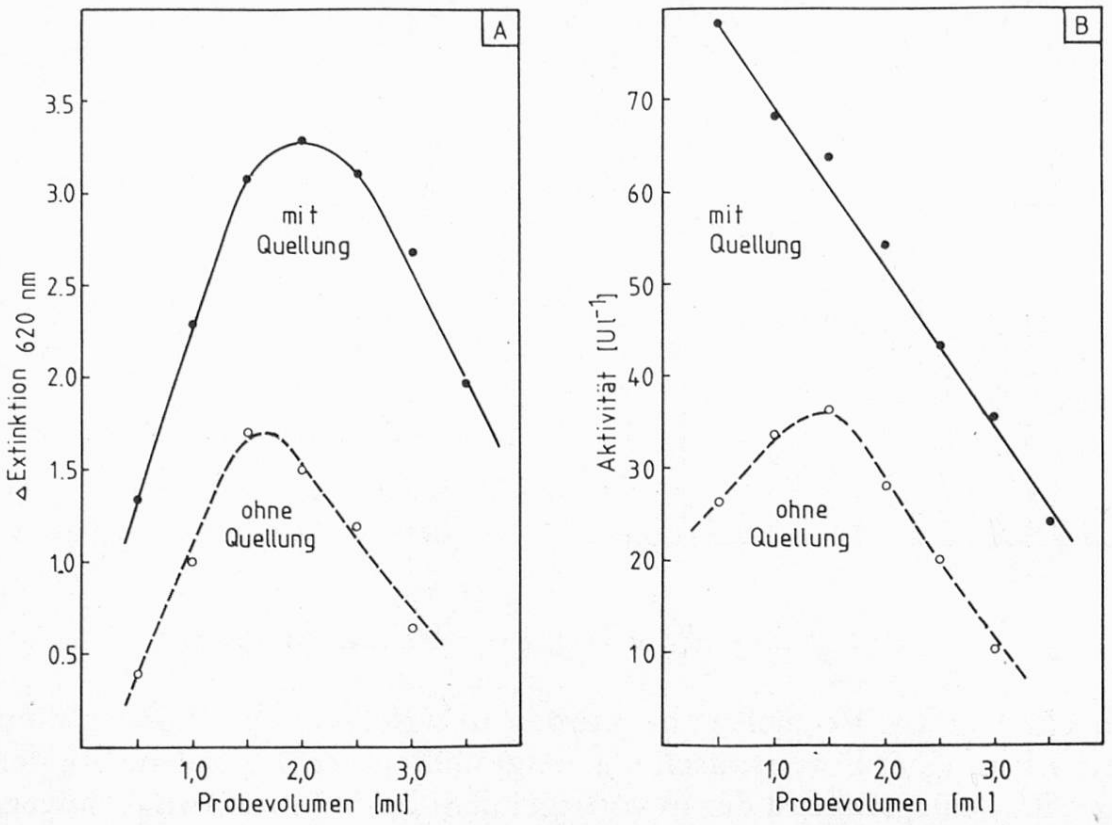

Abb. 9. Einfluss der Testanordnung (mit —— bzw. ohne – – – vorgängige Quellung der Testtablette) bei der Bestimmung der α-Amylase in Eiweiss mit dem Phadebas^{R}-Amylase-Test bei unterschiedlichen Probevolumen auf A) die gemessenen Extinktionswerte bei 620 nm und B) die berechneten Aktivitätswerte

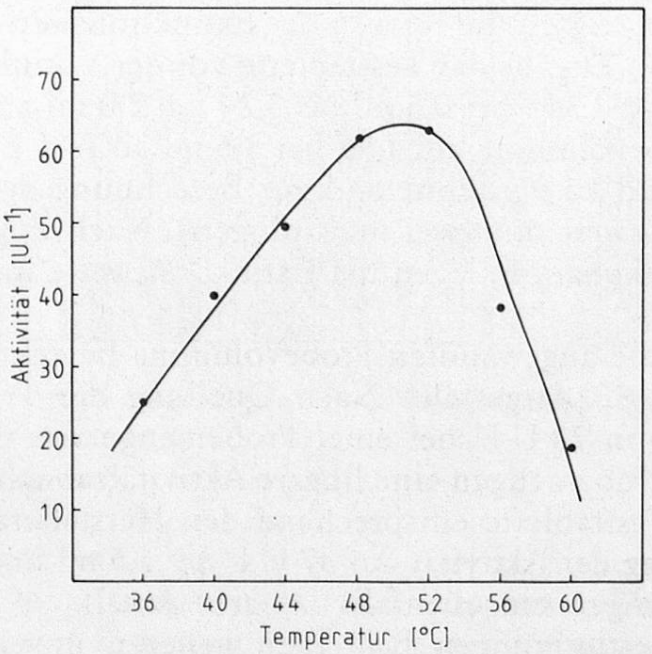

Abb. 10. Temperaturoptimum der α-Amylase in einer Eiweiss-Mischung aus fünf Schaleneiern nach Bestimmung mit dem Phadebas^{R}-Amylase-Test mit Quellung der Testtabletten

Bei der in allen weiteren Ansätzen angewandten Inkubationstemperatur von 44 °C wurden 78% der maximalen Aktivität erfasst.

Bei einer Eiweissmischung mit einer Enzymaktivität von 98 U l^{-1} erfolgte bei Inkubation der Ansätze mit Quellung der Testtabletten zwischen 10 und 60 min mit zunehmender Inkubationsdauer ein linearer Anstieg der Extinktionswerte. Daher wurde vor allen weiteren Messungen 60 Minuten inkubiert (Abb. 11).

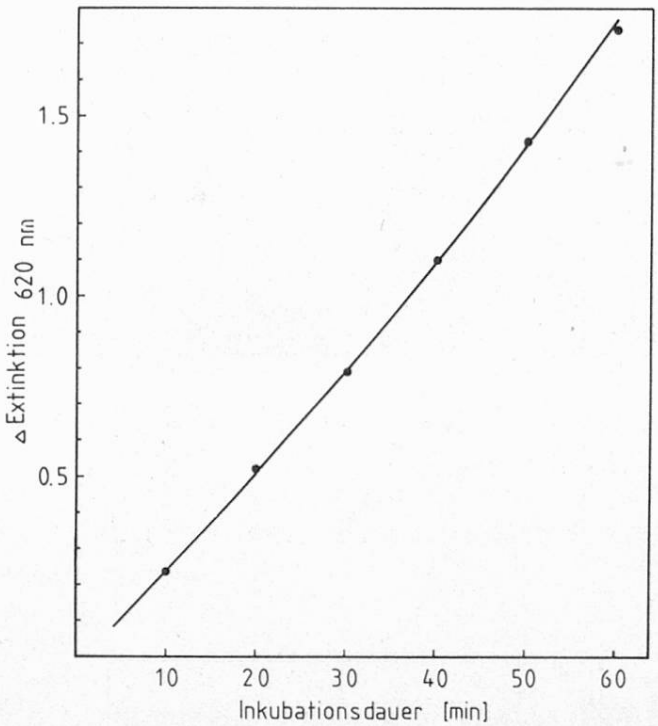

Abb. 11. Extinktionswerte bei 620 nm in Abhängigkeit von der Inkubationsdauer bei Bestimmung der α-Amylase einer Eiweiss-Mischung aus 5 Schaleneiern mit dem Phadebas^{R}-Amylase-Test mit Quellung der Testtabletten

Die Aktivitätsbereiche der α-Amylase in Eiweiss von 30 Schaleneiern verschiedener Provenienzen sind in Abbildung 12 und von 15 industriell hergestellten Eiweissmassen in Abbildung 13 dargestellt.

Bei den einzelnen Schaleneiern waren sowohl zwischen den Provenienzen als auch innerhalb einer Provenienz erhebliche Aktivitätsunterschiede nachweisbar. Bei den fünf einen Tag alten einheimischen Eiern wurde ein Aktivitätsbereich von 74 bis 109 U l^{-1} bestimmt. Damit lagen diese Werte innerhalb der Schwankungsbreite von 51 bis 110 U l^{-1} der 25 ca. zwei Monate alten Eier. Der Mittelwert der α-Amylase-Aktivität der 30 insgesamt untersuchten Schaleneier war 79 U l^{-1}.

Bei den 15 industriell hergestellten Eiweissmassen lagen die α-Amylase-Aktivitäten in ähnlicher Grössenordnung zwischen 52 und 112 U l^{-1} mit einem Mittelwert von 76 U l^{-1}.

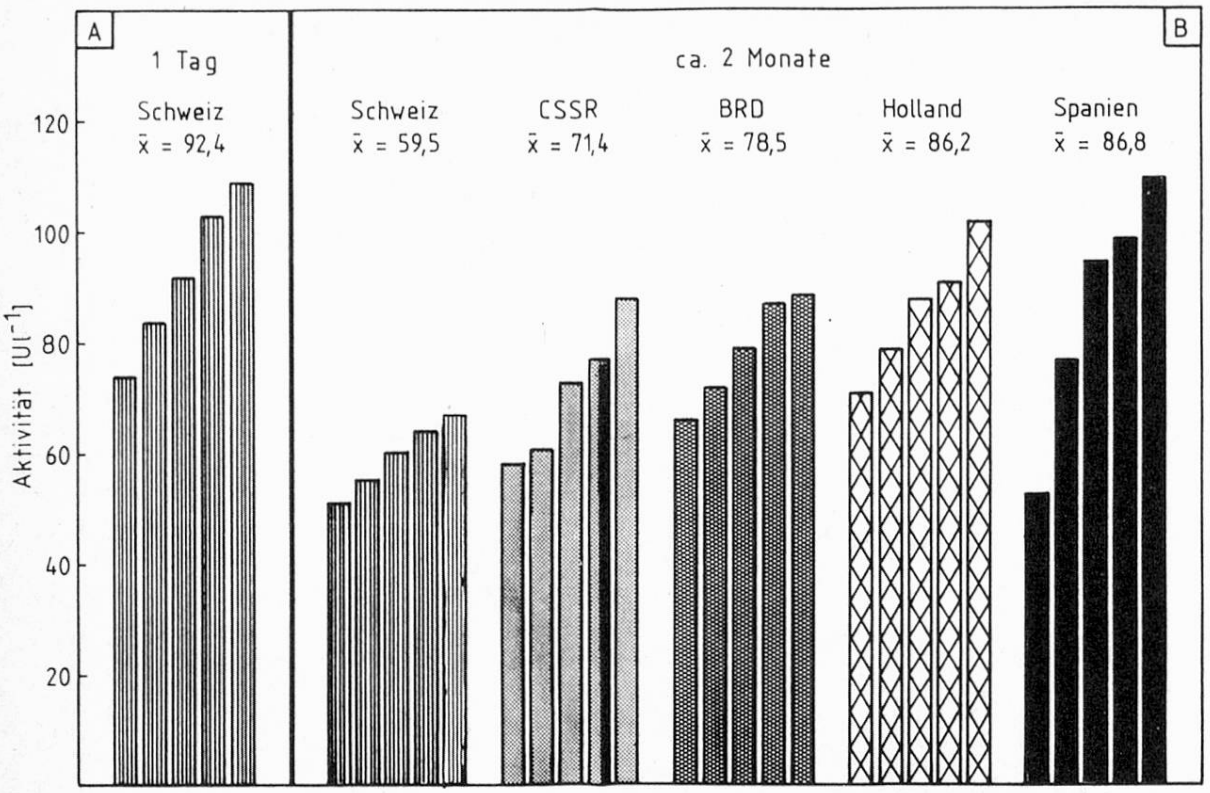

Abb. 12. α-Amylase-Aktivitäten im Eiweiss von 30 ca. zwei Monate alten Schaleneiern fünf verschiedener Provenienzen

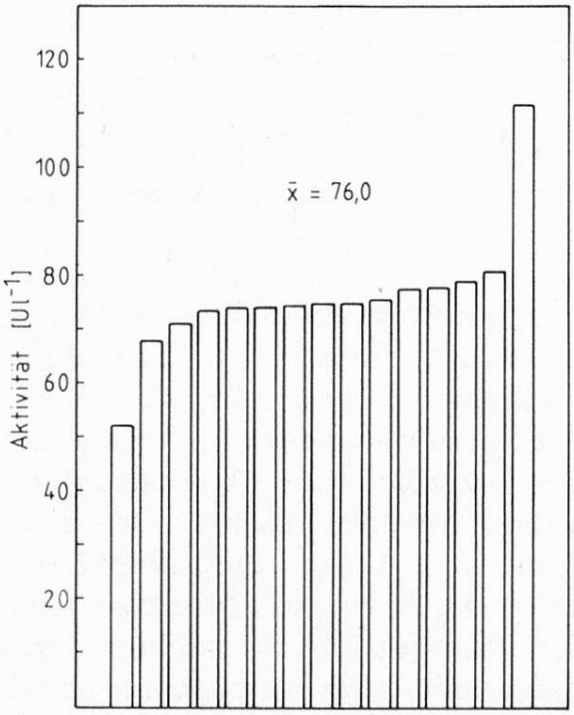

Abb. 13. α-Amylase-Aktivitäten in 15 industriell hergestellten Eiweissmassen

Diskussion

Bestimmung der N-Acetyl-ß-D-glucosaminidase-Aktivität in Hühnereier-Eiweiss

Inkubationstemperatur

Donovan und *Hansen* (8) bestimmten in einer 5%igen Eiweisslösung nach Inkubation bei 18,9, 27,5 und 37 °C N-Acetyl-ß-D-glucosaminidase-Aktivitäten von 73, 133 und 242 U l^{-1}. Dies entspricht einer exponentiellen Zunahme der Aktivität mit steigender Temperatur, die nach den vorliegenden Ergebnissen bis etwa 56 °C zu beobachten ist.

Die hier in den 5- bis 15%igen Eiweisslösungen erhaltenen Temperaturoptima sind offenbar das Resultat von zwei gegensätzlichen Reaktionen: einerseits der mit der Temperatur zunehmenden Reaktionsgeschwindigkeit und andererseits der mit der Temperatur zunehmenden thermischen Denaturierung und Inaktivierung des Enzyms (15–17). Da die Enzym-Inaktivierung in der Regel exponentiell verläuft, sollten die scheinbaren Temperaturoptima unabhängig von der Enzymmenge bei derselben Temperatur auftreten und gleiche Aktivitätswerte pro Liter Eiweiss aufweisen. Die scheinbare Verschiebung der Temperaturoptima zu höheren Temperaturen mit zunehmender Eiweisskonzentration von 60 °C bei 5% zu 66 °C bei 15% Eiweissanteil ebenso wie der weitere Aktivitätsanstieg bei 20- bis 30%igen Eiweisslösungen deuten darauf hin, dass die N-Acetyl-ß-D-glucosaminidase möglicherweise durch hitzestabile Eiweissproteine oder andere Faktoren vor der Inaktivierung geschützt wird.

pH-Wert/Lagerung

Lush und *Conchie* (19) sowie *Donovan* und *Hansen* (8) bestimmten im Eiweiss von 39 bzw. 46 frisch gelegten Schaleneiern nach Inkubation des Testansatzes bei 38 °C N-Acetyl-ß-D-glucosaminidase-Aktivitäten zwischen 278 und 1064 U l^{-1} bzw. 227 und 713 U l^{-1}. Die von *Henderson* (4) in frischen Eiern nachgewiesenen Aktivitäten waren mit 41 bis 245 U l^{-1} deutlich niedriger.

Der pH-Wert frisch gelegter Eier beträgt 7,4, steigt aber durch den Verlust der Pufferwirkung von H_2CO_3 innerhalb weniger Tage bis auf 9,6 an (18). Dabei verliert die N-Acetyl-ß-D-glucosaminidase rasch an Aktivität. Nach den vorliegenden Ergebnissen sind in Eiweiss mit pH-Werten von weniger als 9,1 die Aktivitäten mit 370 bis 690 U l^{-1} durchschnittlich um den Faktor 30 höher als in Eiweiss mit pH-Werten von mehr als 9,1. *Donovan* und *Hansen* (8) fanden nach zweimonatiger Lagerung der Eier bei 4 °C noch rund 30% der ursprünglichen Aktivität. Wurden die Eier dagegen bei 22 °C aufbewahrt, so erfolgte bereits innerhalb von 8 Tagen eine vollständige Inaktivierung, sobald ein pH-Wert von 9,0 überschritten wurde. Auch *Lush* und *Conchie* (19) hatten gefunden, dass die N-Acetyl-ß-D-glucosaminidase-Aktivität im Eiweiss älterer Eier stark reduziert war. Nach 10 Tagen Lagerung bei Raumtemperatur nahm die Aktivität von 400 auf 250 U l^{-1} und nach 19 Tagen auf 30 U l^{-1} ab. *Ball* und *Winn* (20) und *Winn* und *Ball* (21) stellten

bei einem pH-Wert von 9,2 eine Reduktion der Aktivität um 70 bis 80% fest. Den grössten Einfluss auf die Aktivität der N-Acetyl-ß-D-glucosaminidase in Hühnereiweiss hat zweifellos der pH-Wert. Andere Faktoren wie Hühnerrasse, Alter der Legehennen, Futterqualität, Haltungsbedingungen dürften demgegenüber eine weit geringere Rolle spielen.

Bestimmung der Lysozym-Aktivität in Hühnereier-Eiweiss

Für Routineuntersuchungen ist es vorteilhaft, wenn die Bestimmungen der Enzymaktivitäten gleichzeitig bei mehreren Proben nach einer einfachen Endwertmethode durchgeführt werden können. Dies setzt voraus, dass bei gegebenen Reaktionsbedingungen wie Pufferart, pH-Wert, Substratkonzentration, Inkubationstemperatur usw. der Umsatz innerhalb der gewählten Inkubationsdauer proportional zur eingesetzten Enzymmenge verläuft. Für die Bestimmung der katalytischen Aktivität eines Enzyms werden hohe Substratkonzentrationen verwendet, so dass am Ende des Tests erst ein geringer Teil umgesetzt ist. Bei Bestimmung der Enzymaktivität nach der Endwertmethode muss daher die Reaktion nach Ablauf einer bestimmten Inkubationsdauer gestoppt werden.

Die Ergebnisse bei fortlaufender Messung der Extinktion bei 450 nm (Abb. 3) haben gezeigt, dass bei entsprechender Verdünnung der Eiweisslösung die zeitliche Konzentrationsabnahme der *Micrococcus lysodeicticus* Suspension bis zu 30 Minuten linear verläuft. Bei 20 Probeleerwerten wurde nach 30 Minuten Inkubation bei 25 °C ein mittlerer Extinktionswert von 0,73 bestimmt. Der minimale Extinktionswert des Probeansatzes, der noch zuverlässige Ergebnisse liefert, liegt bei 0,15. Damit können mit der hier angewandten Methode Lysozym-Aktivitäten bis zu $6{,}8 \times 10^5$ U l^{-1} in der Probelösung bestimmt werden. Bei Eiweiss, das Lysozym-Aktivitäten von rund 3×10^8 U l^{-1} enthält, ist daher eine 1000fache Verdünnung erforderlich.

Bestimmung der Katalase-Aktivität in Hühnereier-Eiweiss

Das Häm-haltige Enzym Katalase katalysiert die Zersetzung von Wasserstoffperoxid auf zwei unterschiedlichen Reaktionswegen. In beiden Fällen wird zunächst ein primärer Komplex zwischen einem Wasserstoffperoxidmolekül und der eisenhaltigen Hämgruppe des Enzyms gebildet. Im «katalatischen» Reaktionsmechanismus reagiert dieser Primärkomplex mit einem zweiten Wasserstoffperoxidmolekül und führt zur Freisetzung von molekularem Sauerstoff. Die Zerlegung im «peroxidatischen» Reaktionsweg erfolgt durch die Anwesenheit eines externen Wasserstoffdonors. Nach Angaben von *Deisseroth* und *Dounce* (25) überwiegt der «katalatische» Reaktionsmechanismus bei H_2O_2-Konzentrationen von mindestens 10^{-4} m, während bei geringeren Konzentrationen und Anwesenheit eines geeigneten Wasserstoffdonors die «peroxidatische» Reaktion die Regel ist.

Bei der colorimetrischen Methode zur Bestimmung von Cholesterin in Lebensmitteln nach *Böhringer* (12) setzt die im Testansatz enthaltene Katalase fortlaufend das aus der Oxidation von Cholesterin entstehende H_2O_2 in Gegenwart von Methanol als externem Wasserstoffdonor nach dem «peroxidatischen» Prinzip um. Ausgehend von der Cholesterin-Bestimmungsmethode wurde die Methode zur Aktivitätsbestimmung der Katalase in Hühnereier-Eiweiss mit einer Inkubation von 0,5 ml unverdünntem Eiweiss während 45 min bei 44 ± 0,1 °C modifiziert.

H_2O_2-Konzentration

In den vorliegenden Untersuchungen wurden mit einer 5,5 mM H_2O_2-Lösung die höchsten Umsetzungen gemessen. Bei höheren Konzentrationen wird die «peroxidatische» Wirkung der Katalase von der «katalatischen» verdrängt. Diese führt nicht zur Oxidation von Methanol und damit auch nicht zur Bildung des gelben Lutidinfarbstoffes. Die H_2O_2-Konzentration, die über den «peroxidatischen» bzw. «katalatischen» Reaktionsweg entscheidet, liegt mit 5,5 mM, entsprechend 0,786 mM H_2O_2 im Messvolumen, knapp 8fach höher als von *Deisseroth* und *Dounce* (22) angegeben.

Der kontinuierliche Anstieg der Extinktionswerte auch bei H_2O_2-Konzentrationen über 5,5 mM bei der Probe mit 0,1 ml Eiweiss sowie dem nur mit Puffersubstrat und H_2O_2-Lösung inkubierten Ansatz dürfte auf eine nicht-enzymatische Oxidation des Methanols zu Formaldehyd durch H_2O_2 zurückzuführen sein.

Inkubationsdauer

Die Kurven in Abbildung 6 zeigen, dass die Umsatzrate bei Extinktionswerten über 1,0, das heisst bei höheren Enzymkonzentrationen, mit zunehmender Inkubationsdauer langsamer wird und bei Werten über 1,6 zum Erliegen kommt. Die Beeinträchtigung der Umsetzung gegenüber der Anfangszeit kann folgende Gründe haben:

1. Der hier beschriebene Testansatz wird mit einer begrenzten H_2O_2-Konzentration von 0,786 mM im Messvolumen durchgeführt. Es wäre also denkbar, dass ein Substratverbrauch zu einem Stillstand der Reaktion führen könnte.
2. In Betracht zu ziehen ist eine Gleichgewichtseinstellung der Folgereaktion, in der aus der Katalyse hervorgegangenes Formaldehyd mit Ammoniak und Acetylaceton reagiert und zur Bildung des Lutidinfarbstoffes führt.

Katalase-Aktivitäten in Hühnereier-Eiweiss

In einem Aktivitätsbereich von 1,4 bis 62,8 U l^{-1} bei Schaleneiern aus fünf unterschiedlichen Provenienzen wurden innerhalb einer Provenienz «peroxidatische» Katalase-Aktivitäten, die sich um den Faktor 1,9 (BRD) bis 11,9 (Finnland) voneinander unterscheiden, bestimmt. *Lineweaver* et al. (24) fanden 10fache Va-

riationen in der «katalatischen» Aktivität. *Henderson* und *Robinson* (4) ermittelten nach Bestimmung der Sauerstoffentwicklung während der H_2O_2-Zersetzung «katalatische» Aktivitäten von 76 bis 346 U l^{-1}. Die Ursachen für diese ganz erheblichen Aktivitätsunterschiede zwischen den einzelnen Schaleneiern sind unbekannt.

In den industriell hergestellten Eiweissprodukten waren die Unterschiede mit Abweichungen von 27% deutlich geringer.

Die Phadebas^R-Methode zur Bestimmung der α-Amylase-Aktivität

Die vom Hersteller (14) angegebene Vorschrift zum Phadebas^R-Amylase-Test wurde in einer früheren Arbeit (13) so modifiziert, dass der Test zur Bestimmung der α-Amylase-Aktivitäten in Vollei und Eigelb geeignet war. Die Ergebnisse hatten gezeigt, dass nur 5% der im Vollei gemessenen Aktivität aus der Eiweiss- und 95% aus der Eigelbfraktion stammen.

Bei Anwendung des für Vollei modifizierten Tests bei Eiweiss wurden oft Messwerte nahe der unteren Nachweisgrenze des Phadebas^R-Amylase-Tests von $E_{620} = 0{,}040$ erhalten. Es mussten daher die variablen Testparameter Probemenge, Inkubationstemperatur und -zeit so angepasst werden, dass Extinktionswerte zwischen 1,0 und 1,5 messbar waren.

Testanordnung/Probemenge

Die erheblichen Unterschiede der Extinktionswerte bei gleichem Probevolumen aber unterschiedlicher Reihenfolge der Zugabe von Eiweissprobe und Testtablette haben gezeigt, dass die Testanordnung von ausschlaggebender Bedeutung ist. Die Resultate belegen, dass in Eiweiss die Quellung des von *Ceska* et al. (25) entwickelten Stärkepolymers für die Aktivität der α-Amylase notwendig ist.

Auch wenn die Eiweissprobe erst nach der Testtablette zum Ansatz gegeben wird, erfolgt bei Probevolumina grösser als 2,0 ml neben einer fortgesetzten Aktivitätsabnahme zusätzlich auch ein Abfall der Extinktionswerte. Dabei handelt es sich offensichtlich nicht um das Phänomen des Substratmangels, das zwar mit zunehmender Enzymmenge zu einer Aktivitätsabnahme nicht aber nach Erreichen eines maximalen Extinktionswertes zu dessen Abnahme führen würde. Hier müssen andere Faktoren die katalytische Aktivität des Enzyms beeinflussen. Wahrscheinlich erfolgt mit zunehmender Eiweissmenge im Bestimmungsansatz eine Hemmung der α-Amylase durch im Eiweiss vorhandene Proteine. Dieser Inhibitionsmechanismus wird von *Whitaker* (26) als «linear non-competitive inhibition» beschrieben. Danach könnte ein Teil der im Hühnereier-Eiweiss vorhandenen Proteine sehr stabile Komplexe mit der α-Amylase bilden und so deren Aktivität vermindern. Ausserdem bleibt abzuklären, ob in Hühnereier-Eiweiss sogenannte α-Amylase-Inhibitoren vorhanden sind.

Inkubationstemperatur

Das Temperaturoptimum der α-Amylase-Aktivität in Eiweiss bei 48 bis 52 °C liegt praktisch im selben Bereich wie beim Vollei und Eigelb zwischen 50 und 54 °C (13). *Monsey* und *Jones* (6) bestimmten in Eiweiss nach Anwendung der Jod-Stärke-Methode das Temperaturoptimum bei 44 °C.

In Anlehnung an die von der Codex Alimentarius Kommission der FAO/WHO (27) und vom Schweizerischen Lebensmittelbuch (28) festgelegte Inkubation des α-Amylase-Bestimmungsansatzes nach der amyloklastischen Methode bei 44 °C wurde diese Temperatur ebenso wie für Vollei und Eigelb (2, 3, 13) aufgrund der Praktikabilität auch für die Testvorschrift für Hühnereiweiss vorgesehen, obwohl die Aktivitätsoptima bei 52 bzw. 54 lagen.

Inkubationsdauer

Die Verlängerung der Inkubationsdauer von 15 auf 60 Minuten führte zu einer markanten Erhöhung der Extinktionswerte, wobei die Zunahme linear verlief, so dass bei Eiweiss eine Inkubationszeit von 60 Minuten gerechtfertigt ist.

Durch die Erhöhung des Probevolumens von 0,3 auf 0,5 ml, die Verlängerung der Inkubationsdauer von 15 auf 60 Minuten sowie das Auflösen der Testtablette vor Zugabe der Eiweissprobe konnte die Nachweisgrenze des Phadebas^R-Amylase-Tests zur Bestimmung der α-Amylase in Eiweiss auf 3,08 U l^{-1} gesenkt werden. Damit ist die Empfindlichkeit des Phadebas^R-Amylase-Tests nach der vorliegenden Vorschrift für die Bestimmung in Eiweiss um den Faktor 7 höher als bei der für Vollei vorgeschlagenen Testvorschrift (13).

Aktivität der α-Amylase in Hühnereier-Eiweiss

Die Aktivitätsschwankungen der α-Amylase in Eiweiss mit einem Variationskoeffizienten von 21% bei Schaleneiern liegen in derselben Grössenordnung wie sie früher in Eigelb mit 23% bestimmt waren (3) und geringer als in Vollei mit 33% (13). In den industriell hergestellten Eiweissprodukten sind die Unterschiede mit Abweichungen von 16% geringer.

Die in den eintägigen Schaleneiern ermittelten hohen α-Amylase-Aktivitäten deuten darauf hin, dass diese ursprünglich in Eiweiss vorhanden sind und nicht erst mit zunehmendem Alter der Schaleneier infolge Nachlassen der Spannkraft der Dottermembran aus der Eigelbfraktion ins Eiweiss gelangen.

Enzymaktivitäten im Eiweiss von Schaleneiern und industriell hergestellten Eiweissprodukten

In Tabelle 3 sind die in Schaleneiern in vorliegender Arbeit ermittelten Enzymaktivitäten den Werten anderer Autoren gegenübergestellt.

Dies zeigt, dass nur wenige Enzyme in Eiweiss nachzuweisen sind und diese mit Ausnahme von Lysozym, das als Bestandteil der Globulinfraktion (G_1) in ho-

hen Mengen vorhanden ist (29), nur geringe Aktivitäten aufweisen. Zudem sind in den einzelnen Eiern sehr ausgeprägte Aktivitätsunterschiede feststellbar. Solche unterschiedlichen Ausgangsaktivitäten in der unpasteurisierten Eiweissmasse können von Bedeutung sein, wenn die Inaktivierung der Enzyme zum Nachweis einer thermischen Behandlung dienen soll, da bei gleicher Hitzebehandlung unterschiedlich hohe Restaktivitäten zurückbleiben.

Tabelle 3. Enzym-Aktivitäten in Eiweiss, Aktivitätsbereich sowie Mittelwert aus *n* Bestimmungen $\bar{x}(n)$, nach Literaturangaben und eigenen Ergebnissen

Enzyme	Schaleneier Bereich U^{-1}	$\bar{x}(n)$ $U\,l^{-1}$	Referenz	
Cytochrom-Oxidase		u. N.	*Lineweaver* et al.	(24)
Oxidase		u. N.	*Lineweaver* et al.	(24)
Peroxidase		u. N.	*Lineweaver* et al.	(24)
Tributyrinase		u. N.	*Lineweaver* et al.	(24)
Phosphatase		u. N.	*Schormüller* und *Hothorn*	(30)
α-Galactosidase		u. N.	*Lush* und *Conchie*	(19)
α-Glucuronidase		u. N.	*Lush* und *Conchie*	(19)
α-Mannosidase	150– 250	187 (6)	*Lush* und *Conchie*	(19)
		33	*Henderson* und *Robinson*	(4)
N-Acetyl-ß-D-	278–1064	623 (39)	*Lush* und *Conchie*	(19)
glucosaminidase	41– 245	123 (6)	*Henderson* und *Robinson*	(4)
	227– 713	450 (46)	*Donovan* und *Hansen*	(7)
	6– 38	16 (15)	eigene Ergebnisse (pH 9,3)	
	373– 693	526 (10)	eigene Ergebnisse (pH 9,1)	
Lysozym		$3{,}7 \times 10^8$	eigene Ergebnisse	
α-Amylase	51– 110	79 (30)	eigene Ergebnisse	
Katalase				
«peroxidatisch»	1– 63	25 (30)	eigene Ergebnisse	
«katalatisch»	76– 346	232 (6)	*Henderson* und *Robinson*	(4)

u. N. = unter der Nachweisgrenze des angewendeten Testverfahrens

Zusammenfassung

Die Testvorschriften zur Ermittlung der N-Acetyl-ß-D-glucosaminidase-, Lysozym-, Katalase- und α-Amylase-Aktivitäten in Hühnereiweiss verschiedener Herkunft und unterschiedlichen Alters wurden im Hinblick auf ihre Eignung zur Kontrolle einer ausreichenden Pasteurisation kritisch geprüft und entsprechend modifiziert. Die Verfahren wurden nach dem Prinzip der Endwertmethode ausgewählt und lassen die Enzymaktivitäten nach photometrischer Messung der entstehenden Produkte bei der N-Acetyl-ß-D-glucosaminidase, Katalase und α-Amylase bzw. Substratabnahme im Fall von Lysozym bestimmen.

Im Gegensatz zu den sehr hohen Lysozym-Aktivitäten weisen die N-Acetyl-ß-D-glucosaminidase, Katalase und α-Amylase niedrige Aktivitäten auf und zeigen sehr ausgeprägte Schwankungen.

Résumé

Les modes opératoires pour la détermination de l'activité des enzymes N-acétyl-ß-D-glucosaminidase, lysozyme, catalase et α-amylase dans le blanc d'œuf de poule de diverses origines et âges ont été évalués et modifiés en vue de garantir une pasteurisation adéquate. Les méthodes ont été choisies d'après le principe de la valeur finale, permettant de déterminer l'activité enzymatique par la mesure photométrique des produits de réaction pour les enzymes N-acétyl-ß-D-glucosaminidase, catalase et α-amylase et par la diminution du substrat dans le cas de la lysozyme.

En comparaison avec l'activité élevée de la lysozyme, celle des enzymes N-acétyl-ß-D-glucosaminidase, catalase et α-amylase est basse et présente des fluctuations très marquées.

Summary

The methods to determine the enzyme activities of N-Acetyl-ß-D-glucosaminidase-, lysozyme, catalase and α-amylase in chicken egg white of different origins and ages were critically evaluated and modified in vue of an adequate pasteurization of the egg white. The methods were chosen according to the enzyme activity final result method and allow a determination, by means of photometric measuring, of the occurring products with the N-Acetyl-ß-D-glucosaminidase, catalase and α-amylase activity and diminuation of the substrate in the case of lysozyme.

In contrary to the very high lysozyme-activities, the N-Acetyl-ß-D-glucosaminidase, catalase and α-amylase show low activities and very expressive fluctuations.

Literatur

1. Eidg. Lebensmittelverordnung vom 26. Mai 1936 (Stand am 1. 1. 1988). Kapitel 16: Eier und verarbeitete Eier. Artikel 174 Absatz 3. Eidg. Drucksachen- und Materialzentrale, Bern 1988.
2. *Jäckle, M., Geiges, O.* und *Schmidt-Lorenz, W.:* Hitzeinaktivierung von Alpha-Amylase, *Salmonella senftenberg 775 W, Pseudomonas aeruginosa* und *Staphylococcus aureus* in Vollei. Mitt. Gebiete Lebensm. Hyg. **78**, 83–105 (1987).
3. *Jäckle, M., Geiges, O.* und *Schmidt-Lorenz, W.:* Untersuchungen über die Hiteinaktivierung von alkalischer Phosphatase, Alpha-Amylase, *Salmonella typhimurium, Salmonella senftenberg 775 W, Pseudomonas aeruginosa* und *Staphylococcus aureus* in Eigelb. Mitt. Gebiete Lebensm. Hyg. **79**, 69–89 (1988).
4. *Henderson, A. E.* and *Robinson, D. S.:* Effect of heat pasteurization on some egg white enzymes. J. Sci. Food Agric. **20**, 755–760 (1969).
5. *Imai, C.:* Alpha-amylase test as a method for distinguishing unpasteurized egg products from pasteurized products. Poultry Sci. **58**, 815–823 (1979).

6. *Monsey, J. B.* and *Jones, J. B.:* A simple, enzymatic test for monitoring the efficient thermal pasteurization of chicken egg-white. J. Food Technol. **14**, 381–388 (1979).
7. *Donovan, J. W.* and *Hansen, L. U.:* ß-N-Acetylglucosaminidase activity of egg white. 2. Heat inactivation of the enzyme in egg white and whole egg. J. Food Sci. **36**, 178–181 (1971).
8. *Donovan, J. W.* and *Hansen, L. U.:* ß-N-Acetylglucosaminidase activity of egg white. 1. Kinetics of the reaction and determination of the factors affecting the stability of the enzyme in egg white. J. Food Sci. **36**, 174–177 (1971).
9. *Faber, C. N.* and *Glew, P. H.:* Alpha-mannosidase. In: Bergmeyer, H. U., Methods of enzymatic analysis, 3rd ed. Verlag Chemie, Weinheim – Deerfield Beach, Florida – Basel 1981.
10. *Sigma:* Lysozyme Prod. No. L-6876. Assay procedure. SIGMA Chemical Co., St. Louis, USA 4/84.
11. *Weisner, B.:* Lysozyme. In: Bergmeyer, H. U., Methods of enzymatic analysis, 3rd ed. Verlag Chemie, Weinheim – Deerfield Beach, Florida – Basel 1981.
12. *Boehringer:* Methoden der biochemischen Analytik und Lebensmittelanalytik. Cholesterin. Boehringer Mannheim GmbH, Mannheim 1986.
13. *Jäckle, M.* und *Geiges, O.:* Bestimmung der Alpha-Amylase-Aktivität in Vollei und Eigelb mit dem Phadebas[R]-Amylase-Test. Mitt. Gebiete Lebensm. Hyg. **77**, 420–434 (1986).
14. *Pharmacia Diagnostics:* Phadebas[R]-Amylase-Test. Gebrauchsinformation, 1979.
15. *Müller, O.:* Grundlagen der Biochemie I. Biochemische Reaktionen. Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1977.
16. *Lehninger, A. L.:* Biochemie. Verlag Chemie, Weinheim – New York 1979.
17. *Jungermann, K.* und *Möhler, H.:* Biochemie. Springer-Verlag, Berlin – Heidelberg – New York 1980.
18. *Kiefer, H.:* Mikrobiologie der Eier und Eiprodukte. Arch. Lebensmit. Hyg. **27**, 197–232 (1976).
19. *Lush, I. E.* and *Conchie, J.:* Glycosidases in the egg albumen of the hen, the turkey and the japanese quail. Biochim. Biophys. Acta **130**, 81–86 (1966).
20. *Ball, H. R.* and *Winn, S. E.:* ß-N-Acetylglucosaminidase activity of high pH egg white. Poultry Sci. **50**, 1549 (1971).
21. *Winn, S. E.* and *Ball, H. R.:* ß-N-Acetylglucosaminidase activity of the albumen layers and membranes of the chicken's egg. Poultry Sci. **54**, 799–805 (1975).
22. *Deisseroth, A.* and *Dounce, A. L.:* Catalase: Physical and chemical properties, mechanism of catalysis and physiological role. Physiol. Reviews **50**, 319–375 (1970).
23. *Bergmeyer, H. U.:* Grundlagen der enzymatischen Analyse. Verlag Chemie, Weinheim – New York 1977.
24. *Lineweaver, H., Morris, J., Kline, L.* and *Bean, R. S.:* Enzymes of fresh hen eggs. Archs. Biochem. **16**, 443–472 (1948).
25. *Ceska, M., Hultman, E.* and *Ingelman, B. G. A.:* A new method for determination of alpha-amylase. Experientia **25**, 555–556 (1969).
26. *Whitaker, J. R.:* Principles of enzymology for the food sciences. Marcel Dekker Inc., New York 1972.
27. *Food and Agriculture Organization/World Health Organization* (FAO/WHO): Recommanded international code of hygienic practice for egg products – the alpha-amylase test. Joint FAO/WHO Food Standards programme. Codex Alimentarius Commission, 9th session. FAO/WHO, Rome 1971.
28. Schweizerisches Lebensmittelbuch, 5. Auflage, 2. Band, Kapitel 21, Eier und Eikonserven. Eidg. Drucksachen- und Materialzentrale, Bern 1969.

29. *Stadelman, J.* and *Cotterill, J.:* Egg science and technology. 3rd ed., Avi Publ. Co., New York 1986.
30. *Schormüller, J.* und *Hothorn, S.:* Ein Beitrag zur Phosphatasenbestimmung im Hühnerei. Dtsch. Lebensmittel-Rdsch. **52**, 57–66 (1956).

Prof. Dr. W. Schmidt-Lorenz
Laboratorium für Lebensmittelmikrobiologie
Institut für Lebensmittelwissenschaft
ETH-Zentrum
CH-8092 Zürich