

# BÚZALISZTEK OSBORNE SZERINT ELVÁLASZTOTT FEHÉRJE FRAKCIÓINAK MEGHATÁROZÁSA FOTOMETRIÁS MÓDSZERREL

DR. KOVÁCS ERZSÉBET\*

A búzafehérjéket 1907-ben Osborne a következő csoportokba sorolta: vízdékony albuminok, sóoldékony globulinok, alkohololdékony gliadinok és lúgoldékony gluteninek (1). A lisztfehérjék eltérő oldékonyságán alapuló Osborne szerinti frakcionálást alkalmazzák az agrotechnikai változások búzaminőségre gyakorolt hatásának vizsgálatára (2). A frakciók mennyiségi meghatározása az elválasztást követi Kjeldahl módszerrel történik.

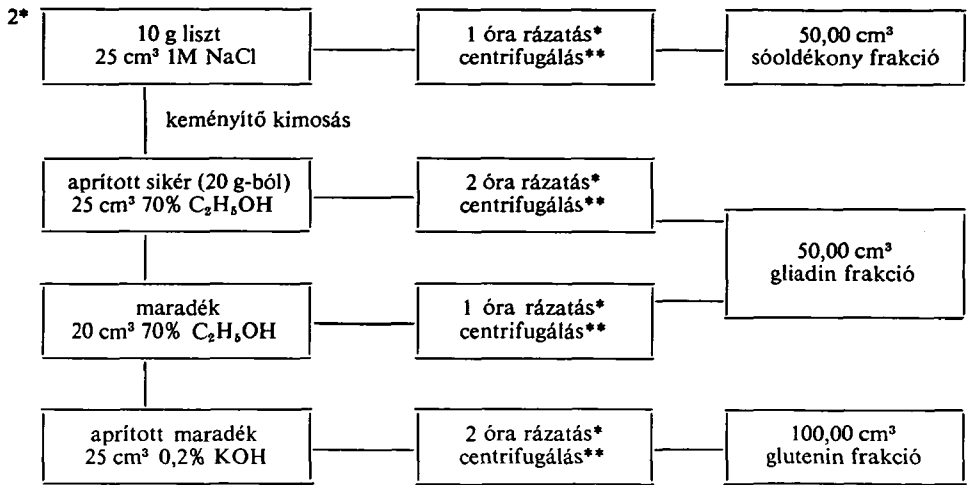
A fehérjefrakciók mennyiségének meghatározására a Kjeldahl eljárás mellett alkalmasak a fotometriás eljárások. *Noll*, *Simmonds* és *Bushuk* alkalmazták először a biuret módszert az általuk módosított formában (3). Minden egyes frakció színárnyalatában különbség mutatkozott, amelyet *Johnson* és *Craney* valamint *Misra* és munkatársai is észleltek (4,5). *Williams* vizsgálatai szerint a biuret eljárás során keletkező réz-fehérje kelátkomplex ibolya színének abszorpciós maximuma 550 nm-nél van, függetlenül a búzafajtától (6). *Stegemann* szintén fehérjék mennyiségi meghatározására alkalmazta a biuret módszert nátriumdodecyl-szulfát jelenlétében (7). A búzafehérjék meghatározásánál a búza egyik legfontosabb komponense a keményítő az, amely zavarja a biuret meghatározást (8). Így a frakciók elkülönítésénél lényeges, hogy a centrifugálás milyen fordulatszámom történik. A különböző fehérjefrakciókra a N-tartalom és extinkció összefüggés lineáris, a regressziós egyenes konstansai a frakciókra szignifikánsan változnak, a fajtára viszont nem mutatnak szignifikáns változást (9).

A kísérletek során az volt a célunk, hogy a búzafehérjék Osborne szerinti frakciói meghatározására a biuret eljárást alkalmazzuk, valamint vizsgálataink eredményeit a Kjeldahl eljárással vessük össze.

## 1. ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK

A vizsgálatokhoz a Jubilejnaja 50 fajtaazonos búzából készült lisztet ( Gabona-termesztési Kutató Intézet Szeged) használtuk. Az Osborne frakcionálást és a Kjeldahl eljárást irodalom szerint végeztük (9.) A frakcionálás során a víz és sóoldékony frakciót közösen 1 molos NaCl-dal oldottuk ki. A frakcionálás vázlatát az 1. ábra mutatja. Az oldott fehérjefrakciókat használtuk fel a biuret eljáráshoz, illetve a roncsoláshoz. A frakcionálás maradékát minden esetben roncsolással határoztuk meg.

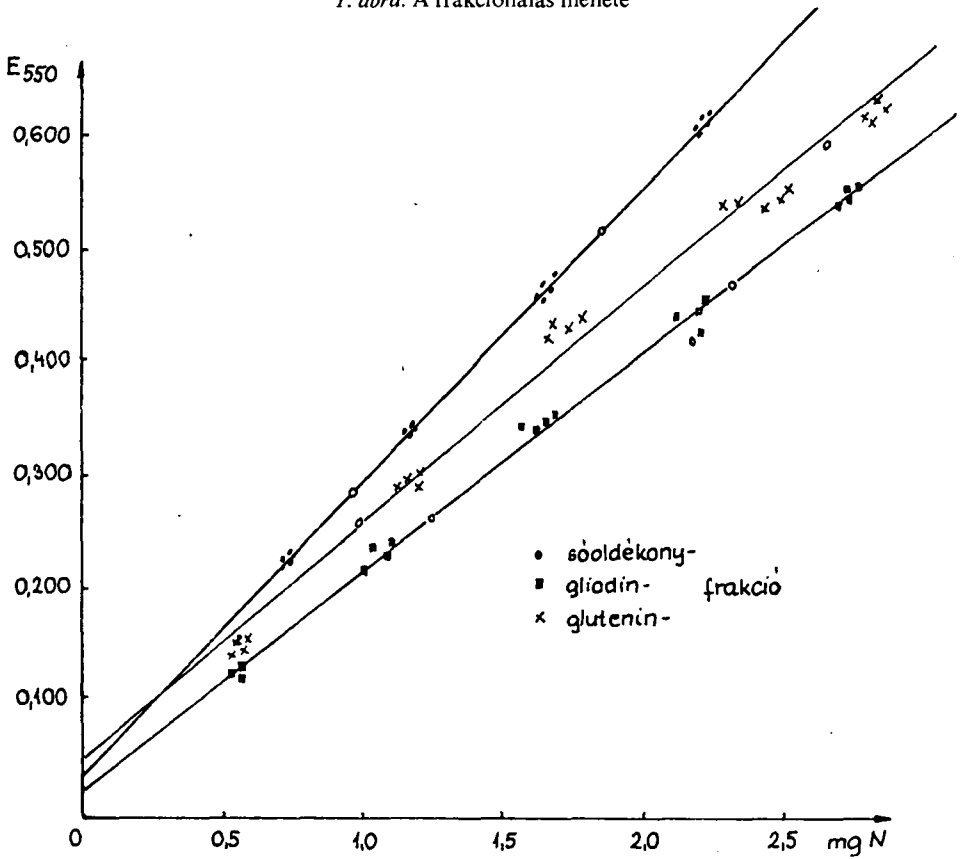
\* Kémia Osztály



\* Labor MIM egyetemes rázó gép

\*\* Janetzki T30 centrifuga, 6000 ford/perc, 30 perc

1. ábra. A frakcionálás menete



2. ábra. A különböző búzafehérje-frakciók regressziós egyenesei

## 2. FEHÉRJE MEGHATÁROZÁSOK

*Biuret eljárás:* 0,00—2,00 cm<sup>3</sup>-es fehérjeoldathoz hozzáadunk 1,00 cm<sup>3</sup> 1 n NaOH és 2,00 cm<sup>3</sup> biuret reagenst. 30 perc várakozási idő után mérjük az extinkciót 550 nm-en. A méréseket PYE UNICAM SP 8 100 spektrofotométerrel végeztük, 10 mm-es kvarcküveték alkalmazásával. (Biuret reagens: 400 cm<sup>3</sup> 9,2 n NaOH oldatban feloldunk 9,00 g kálium nátrium-tartarátot, azután 3,00 g CuSO<sub>4</sub> · 5 H<sub>2</sub>O-t 5,00 g kálium-iodidot. A kapott oldatot 0,2 n NaOH-dal 1000 cm<sup>3</sup>-re töltjük fel.)

Az egyes frakciókra felvett regressziós egyeneseket az 1. ábra mutatja be.

A regressziós egyenesek egyenletei:

$$\text{sóoldékony-frakcióra} : y = 0,229x + 0,063$$

$$\text{gliadin-frakcióra} : y = 0,208x + 0,035$$

$$\text{glutenin-frakcióra} : y = 0,211x + 0,064,$$

ahol  $y$  jelenti extinkciót 500 nm-en,  $x$  pedig N-tartalmat, mg-ban.

## 3. KJELDAHL ELJÁRÁS:

A fehérjeoldatok megfelelő 10—20 cm<sup>3</sup>-es részleteit és a frakcionálás maradékát elroncsoljuk és desztillálással határozzuk meg a N-tartalmat, amelyből a fehérjetartalmat 5,70-es szorzással kapjuk meg.

## 4. EREDMÉNYEK ÉS ÉRTÉKELÉSÜK

A Jubilejnaja 50 búzaliszten elvégzett mérések és számolások alapján az alábbi megállapításokat tehetjük:

A módosított Osborne szerinti frakciók meghatározására alkalmas a frakciók biuret reakcióval történő fotometriás meghatározása. Az egyes frakciókra a  $N$ -tartalom és az extinkció összefüggés lineáris, de csak egy adott frakció mennyiségi értékelésére használható. Így a módszer alkalmazása előtt el kell készíteni az egyes frakciók regressziós egyeneseinek egyenletét.

Az egyes frakciók esetében az  $F$  próbák számításai alapján állapítható, hogy  $P=1\%$  szinten az  $F_{\text{szám.}} < F_{\text{táblázati}}$  (10,4). Így minden frakció viszonylatában a módszerek szórása között nincs szignifikáns különbség, összemérhetőek a szórások. A  $t$ -próbák alapján látható, hogy ugyancsak  $P=1\%$  szinten  $t_{\text{szám.}} < t_{\text{táblázati}}$ , ez azt jelenti, hogy a módszer nem befolyásolja a fehérjetartalom értékeit.

Megállapítható továbbá az, hogy az egyes frakciók esetében mindig a Kjeldahl eljárással kapott értékek a kisebbek a fotometriához viszonyítva. Ennek oka valószínűleg a Kjeldahl eljárás bonyolultságában, illetve több hibaforrásában keresendő, szemben a biuret eljárással. A fotometriás és Kjeldahl eljárások közötti differencia frakciók összegeiben ez átlagosan 8,28 %-os jelent.

## IRODALOM

1. Windemann, H.: Getreide, Mehl- und Brot, 8, 212—214 (1977).
2. Ragasits, J.—Varga, I.: Növénytermelés, 27, 131—140 (1978).
3. Noll, I. S.—Simmonds, D.—H.—Bushuk, W.: Cereal Chemistry, 51, 610—612 (1974).
4. Johnson, R. M.—Craney, C. F.: Cereal Chemistry, 48, 276—280 (1971).
5. Misra, P. S.—Barba, H. R.—Mertz, E. T.: Cereal Chemistry, 50, 184—186 (1973).

## 1. TÁBLÁZAT

*Jubilejnaja 50 búzaliszt Osborne frakcióinak mennyisége Kjeldahl- és fotometriás eljárással*

Sor- szám	1 Molos NaCl oldékony frakció*		Gliadin-frakció*		Glutenin-frakció*		Maradék Kjeldahl
	Kjeldahl	Fotomet- ria	Kjeldahl	Fotomet- ria	Kjeldahl	Fotomet- ria	
1.	12,34	13,46	21,72	25,59	44,48	48,08	5,61
2.	12,36	13,36	21,69	25,59	44,52	47,50	5,90
3.	12,71	13,63	22,16	26,16	41,26	45,25	8,02
4.	13,00	13,36	22,43	26,16	42,30	46,10	7,50
5.	10,11	12,42	23,04	27,16	42,88	44,99	7,31
6.	12,34	12,25	23,04	27,32	45,70	51,20	7,31
7.	10,31	13,89	21,52	24,21	44,87	51,19	7,25
8.	12,34	13,89	21,63	24,50	46,68	48,12	7,62
9.	9,91	13,20	22,50	25,80	44,60	47,12	6,50
10.	10,31	12,71	22,80	26,10	45,02	47,90	6,90
11.	9,71	13,17	24,52	27,02	43,20	45,80	7,30
12.	10,58	13,82	24,30	26,16	42,80	44,50	8,02
13.	9,71	12,84	23,50	25,70	43,70	45,20	6,50
14.	11,20	12,32	23,90	26,80	46,68	48,50	7,02
15.	9,91	13,04	24,00	25,80	43,20	45,20	7,70
$\bar{x}$	11,12	13,15	22,86	26,12	44,12	47,11	7,09

\* a liszt fehérjetartalom %-ában.

## 2. TÁBLÁZAT

*Jubilejnaja 50 búza Osborne frakciói Kjeldahl és biuret módszerrel történő meghatározásnál a szórások, F- és t-próba értékei*

Módszer és frakció	Szórás	Átlag szórása	$F_{szám.}$	$F_{tábl.}$	$t_{szám.}$	$t_{tábl.}$
	$SD = \sqrt{\frac{(x_i - \bar{x})^2}{n-1}}$	$SE = \sqrt{\frac{(x_i - \bar{x})^2}{n(n-1)}}$	$F_{szám} = \frac{SD_1^2}{SD_2^2}$	$F_{tábl.} = 1\%$	$t_{szám} = \frac{(x_1 - x_2)}{s_d^*}$	$t_{tábl.} = 1\%$
Sóoldékony- frakció Kjeldahl Fotometriás	1,2421 0,6600	0,3207 0,1704	3,54 < 3,56		3,98 < 4,07	
Gliadin-frakció Kjeldahl Fotometriás	0,9621 0,8869	0,2484 0,2290	1,17 < 3,56		4,02 < 4,07	
Glutenin-frakció Kjeldahl Fotometriás	1,5615 2,1187	0,4031 0,4031	1,81 < 3,56		4,03 < 4,07	

$$s_d^* = \sqrt{\frac{SD_1^2 + SD_2^2}{n}}$$

6. Williams, P. C.: I. Sci. Food. Agric. 12, 58—60 (1961).
7. Stegemann, H.: Zeitschrift Lebensmitteluntersuchung und Forhung, 170, 14—16 (1980).
8. Mitsuda, H.-Mitsunaga, T.: I. Agric. Biol. Chem. 38, 1649—1652 (1974).
9. Kovács, E.: Búzafehérjék gyors módszerekkel történő meghatározásának tanulmányozása, doktori értekezés, Budapesti Műszaki Egyetem (1976).
10. Sváb, J.: Biometriai módszerek a kutatásban. Mezőgazdasági Kiadó, Budapest (1973).
11. Félix, M.—Blaha, K.: Matematikai statisztika a vegyiparban, Műszaki Könyvkiadó, Budapest (1964).

## PHOTOMETRIC DETERMINATION OF WHEAT FLOUR PROTEIN FRACTIONS SEPARATED BY THE PROCEDURE OF OSBORNE

*Dr. Erzsébet Kovács*

The proteins of Jubileynaya 50 wheat flour were fractionated by the procedure of Osborne. The biuret technique was used for quantitative determination of the individual fractions. The equations of the regression lines for the salt-soluble, alcohol-soluble and base-soluble pure fractions are given for evaluation. For purposes of comparison, the protein contents of the fractions were measured with a micro-Kjeldahl procedure. The comparative measurements demonstrated the applicability of the biuret procedure by means of  $F$ - and  $t$ -test calculations.

## DIE BESTIMMUNG DER, NACH OSBORNE SEPARIERTEN EIWEISSFRAKTIONEN DES WEIZENMEHLS MIT FOTOMETRISCHER METHODE

*Dr. Erzsébet Kovács*

Das Eiweiss des Weizenmehls „Jubilejnaja 50“ wurde von der Verfasserin nach Osborne fraktioniert. Das Biuret-Verfahren wurde zur quantitativen Bestimmung der einzelnen Fraktionen verwendet. Zur Auswertung werden die Gleichungen der Regressionsgeraden der in Salz-, Alkohol- und Lauge löslichen reinen Fraktionen angegeben. Zwecks des Vergleiches wurde der Eiweissgehalt der Fraktionen mit Mikro-Kjeldahl-Verfahren gemessen. Die Verwendbarkeit des Biuret-Verfahrens wird durch die Rechnung der „ $F$ “- und „ $t$ “- Proben bei den Vergleichsmessungen nachgewiesen.

## ОПРЕДЕЛЕНИЕ ФРАКЦИЙ БЕЛКА ПШЕНИЧНОЙ МУКИ, ОТОБРАННЫХ ПО МЕТОДУ OSBORNE ФОТОМЕТРИЧЕСКИМ МЕТОДОМ

*д-р Эржебет Ковач*

Автор проводит фракциональность белка пшеничной муки (Юбилейная—50) по методу Osborne. При количественном определении некоторых фракций он применяет метод биурета. Для оценки даются уравнения регрессивных прямых чистых фракций, растворимых в соли, алкогольле и щелочи. С целью сопоставления содержание белка фракций автор определяет с помощью метода микро-Кьелдаль. Из сопоставительных измерений вычислением пробы  $F$  и  $t$  автор подтверждает применимость метода биурета.