

Gyorsmódszer a búzakeményítő sérültségének meghatározására

KISS EMESE, BOGDÁN JÓZSEFNÉ és GASZTONYI KÁLMÁN

Kertészeti Egyetem, Élelmiszerkémiai Tanszéki Csoport, Budapest

Érkezett: 1976. december 20.

A búza és a búzaliszt legnagyobb hányadát a keményítő teszi ki. A búzalisztból készült sütőipari termékek minőségét jelentősen befolyásolja a keményítő állapota, amelynek egyik fontos jellemzője a szemcsék sérültsége. A búza keményítője őrlés közben mechanikailag károsodik. A csirázásnak indult búza keményítőszemcséi szintén megsérülnek az amiláz-enzimek hatására.

A keményítősérülés jelentősen befolyásolja a liszt és a belőle készült tészta sajátságait. Egyrészt nő a liszt vízfelvevőképessége és a belőle készült tészta víztartalma. Másrészt az amiláz-enzimek jobban hozzáférnek a sérült keményítőszemcsékhez, ezért fokozódik a keményítő cukrosodóképessége, nő a tésztaiban a gáztermelés (1, 2, 3).

Ezek a változások kis amiláz-aktivitás mellett kedvezőek, mert nagyobb lesz a tészta- és a kenyér-hozam, jobb lesz a kenyér minősége. Fokozott enzimaktivitás és nagy keményítősérülés mellett, ami főleg csirázott búza lisztjénél fordul elő, a sütőipari termékek minősége romlik. A sütés alatt ugyanis a nagy aktivitású amilázok számára a sérült keményítő nagyon jó szubsztrátum és ez fokozott keményítőtontást, valamint ezzel együtt járó nagyobb dextrin- és cukor-képződést eredményez. A csirizesedett keményítő nagymérvű lebomlása a kenyér bélzetének reológiai tulajdonságait rontja. A keményítőszemcsék sérültségének mértéke és optimumának meghatározása tehát a malomipar és a sütőipar számára egyaránt érdekes téma.

A keményítő mechanikai sérülésének meghatározásáról *Seidemann* (4) összefoglaló cikket közöl, amelyben a következő módszereket emeli ki:

- a) az őrlés alatt sérült szemcsék mikroszkópos, félkvantitatív vizsgálata, különböző festési technikák alkalmazásával;
- b) jódadzorpciós módszer, amely azon alapszik, hogy a sérült keményítő gyorsabban adszorbeálja a jódot, mint az ép;
- c) enzimes módszer, amelynél az amiláz-enzimfelesleg által lebontott keményítő mennyiségéből lehet a sérülés mértékére következtetni. Ezen az elven alapszik a legtöbb módszer.
- d) polarimetriás módszer, az enzimmel történő sérülésmeghatározás olyan speciális esete, amelynél a liszt összes és ép keményítőtől képződött maltóz különbségéből számítják a sérült keményítő mennyiségét.

A csirázott búza keményítőjének elektronmikroszkópos képe – igen nagy csirázottságtól eltekintve – gyakorlatilag nem különbözik az eredeti szemcsék morfológiai szerkezetétől (5). A különbség összehasonlító viszkozitásmérés alapján azonban megállapítható (6). Oszlopkromatográfiás módszerrel

szintén kimutatható, hogy a csírázott gabonából sült kenyérenél nagyobb fokú a keményítő lebomlása (7). Ennek azonban nem csak a megnövekedett amiláz-tevékenység lehet az oka, hanem a keményítőszemcsék csírázás alatti sérülése, ezáltal pedig könnyebb megtámadhatósága is.

Munkánk során, a fent említett eredmények figyelembevételével, olyan sorozatvizsgálathoz használható, gyors módszert kerestünk, amellyel nemcsak az őrlés alatti mechanikai keményítősérülés, hanem az csírázás alatti sérülés is mérhető. Az előkísérletek alapján Audidier, Y. – Guévièvre, J. F. – Seince, Y. – Benoualid, K. (8) enzimés meghatározását alkalmasnak találtuk keményítősérülés mérésére olyan módosítással, hogy a képződött cukrot dinitro-szalicilsavas módszerrel mértük.

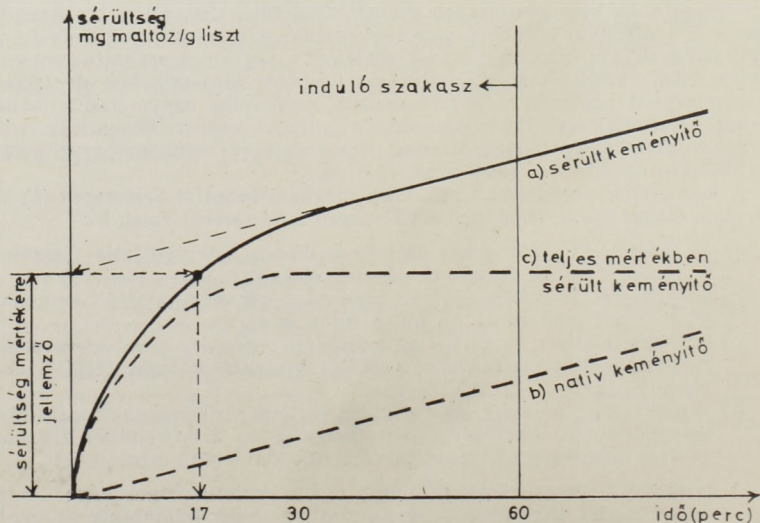
Kísérleti rész

Méréseinket különböző mértékben sérült keményítőjű búzaőrleményekkel végeztük. A mintákat úgy választottuk meg, hogy az őrléskor fellépő mechanikai sérülésen kívül, a fajta és a csírázottsági fok hatását együttesen tudjuk vizsgálni.

A felhasznált 9 búzaminta a következő volt:

- Martonvásári 1, 3, 4, 5
- Fertői 3
- Bezostaja 1
- Jubilejnaja
- Kavkaz
- Libellula

A keményítő bomlása az idő függvényében



1. ábra

A búzák azonos termőhelyről származtak (Martonvásár), a termesztés körülményei megegyeztek, a mintákat azonos módon őrlöttük.

Az általunk alkalmazott módszer lényege a következő:

A vizsgált liszt szuszpenziójához feleslegben adagolunk baktériumos eredetű (*Bac. subtilis*) α -amilázt. Az idő függvényében mérjük a keményítőtől lebontott maltóz mennyiségét.

A keményítő tényleges bomlását az 1. ábra a) görbéje mutatja. Ez a görbe a nativ keményítő (b) és a sérült keményítő (c) elvi bomlási görbéire bontható szét. Ennek alapján az a) görbe induló szakaszára a sérült keményítőszemcsék gyorsabb ütemű bomlása miatt fokozott maltózképződés jellemző. Amikor azonban az enzim rendelkezésére már csak ép keményítő áll, akkor a bontás sebessége konstanssá válik, tehát a maltóz mennyisége lineárisan nő az idő függvényében. Ezt a szakaszt az enzimtevékenység 60 perc alatt éri el. Ha az ezután következő lineáris szakaszt a „0” időpillanatra extrapoláljuk, következtethetünk a sérült keményítő mennyiségére. *Audidier, Y. – Guéviviere, J. F. – Seince, Y. – Benoualid, K.* (8) méréseik alapján megállapították, hogy a keményítőt bontás a 17. percben éri el azt a maltóz-mennyiséget, amely megegyezik a lineáris szakasz „0” időpontra extrapolált értékével, vagyis a sérültség mértékével.

A 17. percben képződött maltóz mennyiségét, az amiláz-enzimek inaktiválása után, eredetileg „ferrocianidos titrálással” határozták meg. Ennél azonban jobbnak bizonyult, ha az enzimfelesleg által képzett cukrot 3,5-dinitro-szalicilsavas (DNSZ) meghatározással, kalibrációs egyenes segítségével, fotometriásan állapítjuk meg (9, 10). Ennek a cukormeghatározásnak a vegyszerigénye kicsi, továbbá gyorsabb és egyszerűbb a kivitelezése, mint a „ferricianidos” titrálásé.

A módszer részletes leírása

Vegyszerek:

Foszfát-puffer (pH-ja 6,9): 1,97 g $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ és 1,23 g KH_2PO_4 oldása 800 cm^3 desztillált vízben, amihez 65 cm^3 0,9%-os NaCl oldatot adunk.

A pH-t 0,1 n NaOH oldattal állítjuk be és 1000 cm^3 -re feltöltjük. (0–4 °C-on tárolható.)

10%-os csersavoldat

10%-os bázisos ólomacetát oldat

DNSZ-reagens: 10 g 3,5-dinitro-szalicilsavat 300 cm^3 -desztillált vízzel és 400 cm^3 1 n NaOH-dal elegyítjük, 300 g K-Na-tartarátot adunk hozzá és melegítés közben oldjuk, 1000 cm^3 -re feltöltjük. (Sötét üvegben CO_2 atmoszférában 6 hónapig is eltartható.)

A mérés menete

0,35 g búzalisztet 25 cm^3 foszfát-pufferban szuszpendálunk. A stopperóra elindításának pillanatában 100 mg baktériumos α -amilázt (enzimaktivitás: 2500 S.K.B.) adunk az elegyhez. 30 °C-os vízfürdőben termosztáljuk 17 percig, rázogatás közben.

Az amiláz-enzimek inaktiválása érdekében 2 cm^3 csersavoldatot, majd 2 cm^3 bázisos ólomacetát oldatot adunk a lisztuszuszpenzióhoz. 5 perc várakozás után az elegyet 10 percig 4000 ford/perc sebességgel lecentrifugáljuk. A tisztájából 1 cm^3 -t kipipettázunk kémcsőbe, 2 cm^3 DNSZ-reagent adunk hozzá. 5 percre 100 °C-os vízfürdőbe helyezzük a kémcsövet, majd hűtés után az oldat 1 cm^3 -ét 10 cm^3 -re hígítjuk desztillált vízzel és 20 °C-on fotometrálnuk a maltóz tartalmú oldatot. A fotometráls körülményei: zöld színszűrő; 540 nm hullámhossz. A le-

olvasott extinkcióból kalibrációs egyenes segítségével (amelynek egyenlete: $\text{Ext.} = 0,161 \times \text{konc.} + 0,016$) állapítjuk meg a képződött cukor mennyiségét (a konc. 1 cm^3 maltóztartalmú oldatban a cukor mg-jait adja meg). 1 g lisztre vonatkoztatott maltóz mennyiségét a fent kiszámolt konc. $\times 83,0$ adja meg – ez jellemző a sérülés mértékére –. Abban az esetben, ha a liszt *keményítőtartalmára* akarjuk a keményítősérülést vonatkoztatni, akkor előzetesen meg kell határozni a lisztben a keményítő mennyiségét.

Az eddigiekben ismertetett meghatározást *Chiang, B. Y. – Miller, G. D. – Johnson, J. A.* (11) polarimetriás keményítősérülés-mérésével hasonlítottuk össze abból a célból, hogy a megbízhatóságát ellenőrizzük. Ez a módszerünk alapelvétől eltérő, új eljárás erre kiválóan alkalmasnak látszott, mert az AACC (12) által ajánlott keményítősérülés-meghatározás eredményeivel jó korrelációban áll.

A mérés lényege, hogy α -amiláz feleslegével 30 percig 30°C -on hidrolizáljuk a keményítőt. Ezen idő alatt a sérült keményítő gyakorlatilag teljesen lebomlik. Az enzim inaktiválása után a mintából kimossuk a cukrot, a maradék keményítőt savas közegben forralva teljesen hidrolizáljuk és a képződött maltózt polarimetrián meghatározzuk (ép keményítő mennyisége). A minta összes keményítőtartalmát a hagyományos savas hidrolízis után polarimetrián mérjük. A két érték különbségéből számítjuk ki a sérült keményítőszemcsék lisztre vonatkoztatott arányát.

Az általunk alkalmazott és az összehasonlító módszerrel a korábban említett mintákból 5–5 párhuzamos mérést végeztünk. Az ismétlések átlagából számoltuk ki a regressziós egyenest és a korrelációs együtthatót.

Mérési eredmények értékelése

A mérési adatokat és azok szórását az 1. táblázatban közöljük és a 2. ábrán szemléltetjük.

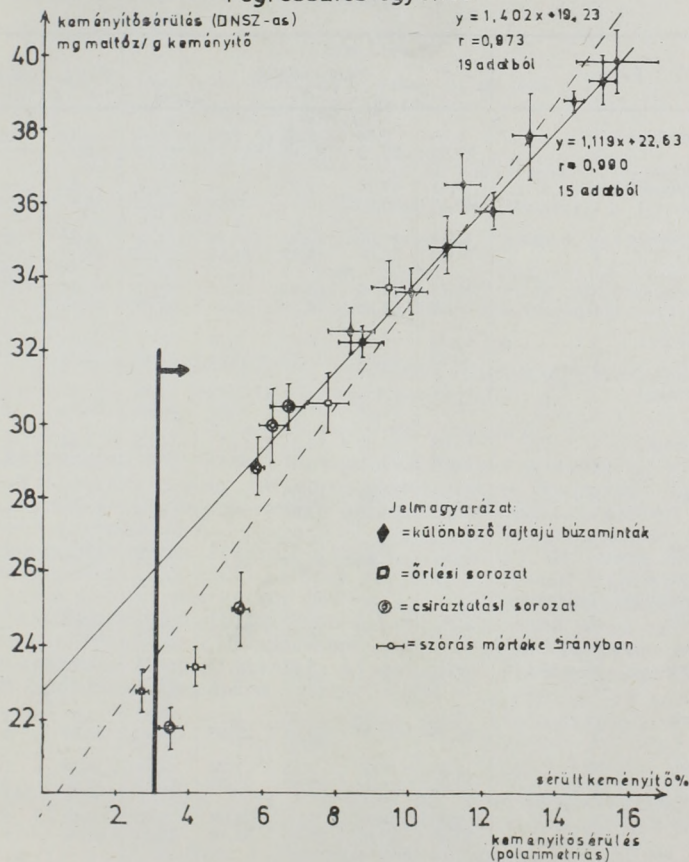
Az X-tengelyen a polarimetriás keményítősérülés meghatározásánál mért sérült keményítő lisztre vonatkoztatott %-át adjuk meg, az Y-tengelyen az általunk vizsgált DNSZ-as módszernél mért 1 g keményítőtől képződött maltóz mg-jait, amely érték jellemző a sérültségre. A 4 legalacsonyabb keményítősérülés adatait elhagyva a két módszer 5–5 párhuzamos adatából számolt standard deviáció ($S_{\bar{a}_x}$, $S_{\bar{a}_y}$), az átlagos korrigált szórás ($S_{\bar{x}}$, $S_{\bar{y}}$), a regressziós egyenes egyenlete és a korrelációs együttható (r) a következők:

$$\begin{aligned} S_{\bar{a}_x} &= 5,27\% \text{ (méréstartomány: 6–17 sérült kem. \% lisztre)} \\ S_{\bar{a}_y} &= 6,84\% \text{ (méréstartomány: 28–41 mg maltóz/g keményítő)} \\ S_{\bar{x}} &= 2,35\% \\ S_{\bar{y}} &= 3,05\% \\ y &= 1,119 \times + 22,63 \\ r &= 0,990 \end{aligned}$$

Az alacsony keményítősérülés adatait azért hagytuk el, mert a polarimetriás keményítősérülés meghatározásnál a polariméteren mérhető legkisebb különbség 0,5 körosztás volt, ez pedig 15% lisztnedvesség mellett 3,2% sérült keményítőnek felel meg. Ezen érték körül a polarimetriás mérés bizonytalansága nagy. A gyakorlatban használatos őrlési módok ilyen alacsony keményítősérülést nem okoznak. Amennyiben azonban ezen pontokat is figyelembe vesszük, a fent ismertetett adatok a következők:

$$\begin{aligned} S_{\bar{a}_x} &= 3,64\% \text{ (méréstartomány: 3–17 sérült kem. \% lisztre)} \\ S_{\bar{a}_y} &= 4,52\% \text{ (méréstartomány: 22–41 mg maltóz/g keményítő)} \end{aligned}$$

A polarimetriás és a DNSZ-as módszerrel mért keményítősérülés adatai, azok szórása és a regressziós egyenes



2. ábra

$$\begin{aligned} S_{\bar{x}} &= 1,62\% \\ S_{\bar{y}} &= 2,02\% \\ y &= 1,402x + 19,23 \\ r &= 0,973 \end{aligned}$$

Megállapítható tehát, hogy a korrelációs együttható jó, az általunk választott módszer nemcsak mechanikai, hanem enzimes eredetű keményítősérülés meghatározására is alkalmas. Gyorsasága mellett előnye, a polarimetriás mérés-szel szemben, hogy szükség esetén igen alacsony mértékű sérülés meghatározása is lehetséges.

A DNSZ-as (Y) és a polarimetriás (X) módszerrel mért keményítősérülés adatai különböző búzafajták lisztjénél, valamint eltérő őrlési és csíráztatási idők esetén

Fajta	Mérési adatok						Átlag	Szórás
Martonvásári 1	X	9,08	9,35	8,68	7,88	7,34	8,47	± 0,81
	Y	31,92	32,19	32,70	33,74	32,19	32,55	± 0,72
Martonvásári 3	X	15,41	17,16	16,62	15,14	13,78	15,62	± 1,33
	Y	40,52	39,09	38,44	40,65	40,65	39,87	± 1,04
Martonvásári 4	X	11,07	11,60	10,80	10,40	11,33	11,04	± 0,47
	Y	34,32	35,64	34,85	34,85	34,72	34,88	± 0,48
Martonvásári 5	X	15,27	14,59	15,14	15,81	15,41	15,24	± 0,44
	Y	38,63	38,88	40,33	40,06	38,88	39,36	± 0,81
Fertődi 3	X	10,65	9,43	9,97	9,70	10,65	10,08	± 0,55
	Y	33,83	32,54	33,32	34,48	33,83	33,60	± 0,72
Bezosttája 1	X	11,07	11,85	10,68	11,72	11,98	11,46	± 0,56
	Y	36,85	37,24	37,48	36,09	35,08	36,55	± 0,98
Jubilejnaja	X	14,03	14,32	14,31	14,71	14,85	14,44	± 0,33
	Y	39,06	38,28	38,53	39,72	38,67	38,85	± 0,32
Kavkaz	X	12,85	13,65	13,65	12,58	13,52	13,25	± 0,50
	Y	35,68	38,29	37,24	39,97	38,15	37,87	± 1,57
Libellula	X	12,97	12,97	12,17	11,76	11,76	12,33	± 0,61
	Y	35,37	35,88	35,63	36,67	35,75	35,86	± 0,49
Martonvásári 1, őrlési idő:								
1 perc	X	2,72	2,72	3,04	2,86	2,97	2,86	± 0,14
	Y	22,16	23,36	22,62	22,62	23,60	22,87	± 0,59
2 perc	X	4,27	4,15	4,15	4,77	4,15	4,30	± 0,27
	Y	22,48	23,36	23,78	23,78	23,78	23,44	± 0,57
3 perc	X	7,15	7,64	7,40	8,75	8,63	7,91	± 0,73
	Y	30,70	32,36	29,96	29,96	29,96	30,59	± 1,08
4 perc	X	9,28	8,66	9,16	7,30	9,28	8,74	± 0,84
	Y	32,98	31,98	32,02	32,02	32,50	32,30	± 0,44
5 perc	X	9,90	9,78	9,65	9,28	8,66	9,45	± 0,50
	Y	33,48	35,14	32,98	33,70	33,20	33,70	± 0,85
Bezosttája 1, csíráztatási idő:								
0 nap	X	3,61	3,48	4,10	3,11	3,58	3,58	± 0,35
	Y	21,78	22,02	22,52	21,06	21,30	21,74	± 0,58
1 nap	X	5,74	5,60	5,23	5,34	5,35	5,45	± 0,25
	Y	23,76	24,48	26,90	25,18	24,96	25,06	± 1,17
2 nap	X	5,89	5,89	6,14	5,89	6,02	5,97	± 0,11
	Y	27,80	29,76	28,30	28,54	30,00	28,88	± 0,95
3 nap	X	5,77	6,27	6,02	6,90	6,78	6,35	± 0,48
	Y	28,34	30,06	31,02	29,32	31,28	30,00	± 1,21
4 nap	X	6,14	7,14	7,27	6,51	7,02	6,82	± 0,48
	Y	31,20	29,98	30,70	29,48	30,96	30,46	± 0,72

Köszönjük *Polhammer Ernőné* laborvezetőnek, hogy a vizsgálatainkhoz szükséges búzaminákat részünkre biztosította és *Cserni Istvánné* technikusnak, hogy munkánkhoz áldozatos segítséget nyújtott.

IRODALOM

- (1) *Lorenz, K.*—*Johnson, J. A.*: *Cereal Science Today*, 15, 46, 1970.
- (2) *Zimmermann, R.*: *Bäcker u. Konditor*, 18, 98, 1970.
- (3) *Farrand, E. A.*: *Cereal Chem.* 49, 479, 1972.
- (4) *Seidemann, J.*: *Nahrung*, 19, 493, 1975.
- (5) *Evers, A. D.*—*McDermott, E. E.*: *Stärke*, 22, 23, 1970.
- (6) *Kosmina, N. P.*—*Voronova, E. A.*; *Hlebopekarnaja i Konditerszkaja Promüslennoszt'* 2, 7, 1969.
- (7) *Kosmina, N. P.*—*Voronova, E. A.*—*Baskakova, N. N.*—*Babicenko, L. V.*: *Naucno-Technicseskaja Informacija*, 26, 10, 1971.
- (8) *Audidier, J. F.*—*Guérivière, Y.*—*Seine, Y.*—*Benoualid, K.*: *Stärke*, 20, 78, 1968.
- (9) *Gasztonyi K.*: *ÉVIKE*, 15, 103, 1969.
- (10) *Bergmeyer, H. U.*: *Methoden der Enzymatischen Analyse*. Verlag Chemie I. 848, 1970.
- (11) *Chiang, B. Y.*—*Miller, G. D.*—*Johnson, J. A.*: *Cereal Chem.* 50, 44, 1973.
- (12) AMERICAN ASSOCIATION OF CEREAL CHEM.: *Cereal Laboratory Methods*, 7th Ed. 1962.

БЫСТРЫЙ МЕТОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ ПОВРЕЖДЕННОСТИ ПШЕНИЧНОГО КРАХМАЛА

Э., Киши Богдан Й-нэ, Гостони К.

Повреждение пшеничного крахмала оказывает влияние на качество готовой продукции. Для его определения авторы предлагают быстрый метод, суть которого заключается в том, что излишним количеством бактериальной альфа-амилазы в течении 17 минут (30 °С, термостат, фосфатный буфер) расщепляется крахмал. После инактивации Фермента образующуюся мальтозу, количество которой показывает степень поврежденности, определяют фотометрически при 540 нм, при помощи калибрационной кривой с 3,5-динитро-салициловой кислотой. Разработанный метод показывает хорошую корреляцию с полярометрическим методом измерения повреждения крахмала Хианга, Миллера и Джонсона. Уравнение прямой регрессии (кроме незначительных повреждений)

$$y = 1,119 X + 22,63$$
$$r = 0,990$$

SCHNELLMETHODE ZUR BESTIMMUNG VON VERLETZUNGEN DER WEIZENSTÄRKE

E. Kiss, J. Bogdan und K. Gasztonyi

Die Qualität des Endproduktes wird durch die Verletzung der Stärke des Weizenmehls nachteilig beeinflusst. Die von den Verfassern empfohlene Schnellmethode zur Bestimmung der Verletzung besteht wesentlich aus dem Abbau der Stärke durch eine 17minütige Behandlung mit überschüssiger bakteriellen α -Amylase (bei 30 °C, im Thermostat, in Phosphatpuffer). Nach Inaktivierung des Enzyms wird die entstandene Maltose, deren Menge den Grad der Verletzung kennzeichnet, mit 3,5-Dinitrosalicylsäure mittels einer Kalibriergerade bei 540 nm photometrisch bestimmt. Die Methode wies eine gute Übereinstimmung mit dem polarimetrischen Messung der Stärkeverletzung nach Chiang, Miller und Johnson. Die Gleichung der Regressionsgerade lautet (abgesehen von ganz geringen Verletzungen):

$$Y = 1,119 X + 22,63; \quad r = 0,990$$