

## A búza amiláz-aktivitásának mérése színezett keményítő származékkal

PÁRKÁNYNÉ GYÁRFÁS ANNA és VAMOSNÉ VIGYÁZÓ LILLY  
Központi Élelmiszeripari Kutató Intézet, Budapest

Érkezett: 1978. december 29.

A makromolekulákat hidrolizáló enzimek aktivitásának mérésekor kapott értékek erősen függ a szubsztrátum minőségétől. Ezért egyre inkább a gyárilag jól reprodukálható minőségben előállított, minél egyszerűbben kezelhető szubsztrátumok alkalmazására törekszenek. A klinikai gyakorlatban, továbbá néhány szerző munkájában a búza, a rozs és a liszt esetében is (1, 2, 3) használják az alfa-amiláz-aktivitás mérésére a Phadebas Amylase Test elnevezésű szubsztrátumot.

Módosításokkal, kinetikai szempontok figyelembevételével megpróbáltuk a szubsztrátumot hazai búzafajták amiláz-aktivitásának meghatározására felhasználni, s vele rutinvizsgálatokra alkalmas módszert kidolgozni.

Az említett szubsztrátumot, amely lényegében színezett keményítő-származék, az amiláz vízben oldódó terméké hidrolizálja. A hidrolizált termékkel egyidejűleg arányos mennyiségű kék színező anyag is oldatba megy. A reakcióelegy színintenzitása az enzim-aktivitás értékével arányos.

A módszerrel két évjáratban természetett búzafajták fajlagos amiláz-aktivitását határoztuk meg. Nagyszámú minta tájékoztató vizsgálata céljából kidolgoztuk a módszer gyors változatát.

### Anyagok és módszerek

*A búzafajták:* vizsgálatainkhoz a búzafajtákat az Országos Mezőgazdasági Fajtakísérleti Intézettől szereztük be.

*A szubsztrátum:* szubsztrátumként, mint említettük, a tablettá formájában gyártott Phadebas Amylase Test készítményt használtuk (Pharmacia AB, Svédország). A tablettá étevezett, háromdimenziós rácsszerkezetté alakított oldható burgonyakeményítőt tartalmaz, amelyhez kék színező anyag kapcsolódik kovalens kötéssel. A keményítő-származékon kívül a tablettá puffer-sókat és nátrium-kloridot is tartalmaz. Vízben, reakcióelegyben jól duzzad. A reakcióidő végén a maradék szubsztrátum szűrővel könnyen eltávolítható (4).

*Az enzimkivonat készítése:* a búzát daráló berendezésen aprítottuk (SAVARIA tip., Keripar, Szombathely) úgy, hogy a legnagyobb szemcseméret 800 mikron legyen. A búzadarából 10–50 g-ot 100 kcm desztillált vízzel 60 percig asztali rázógépen rázattunk, aztán centrifugálással és szűrővel készítettük az amiláz-tartalmú enzimkivonatot.

A kísérleti körülmények: 10 kcm reakcióelegyben 2 db Phadebas Amylase Test tabletta, pH 7,0, 50 °C

a	Egyenes	Enzimkivonat %	Regressziós egyenes	r <sup>2</sup>
a	1	1	OD = 0,02 + 0,017t	0,9963
	2	2	OD = 0,02 + 0,033t	0,9981
	3	3	OD = 0,02 + 0,050t	0,9987
	4	4	OD = 0,01 + 0,066t	0,9969
	5	5	OD = 0,02 + 0,082t	0,9957
b	6	1	OD = 0,01 + 0,008t	0,9885
	7	2	OD = 0,03 + 0,015t	0,9940
	8	3	OD = 0,03 + 0,022t	0,9977
	9	4	OD = 0,03 + 0,028t	0,9979
	10	5	OD = 0,03 + 0,036t	0,9986
c	11	1	OD = 0,02 + 0,039t	0,9964
	12	2	OD = 0,03 + 0,082t	0,9965

t = reakcióidő (min), OD = extinkció, r<sup>2</sup> = a determinációs koefficiens. A függőleges vonal a szórást jelöli.

**Az aktivitásmérő módszer leírása:** 8 kcm desztillált vizet tartalmazó lombikokban 2–2 db Phadebas Amylase Test tablettát állandó rázatás közben Vibrothermben (Labor-MIM gyártmány Tip LE 204) 50 °C-on duzzasztottunk és egyben előmelegítettünk, hozzáadtuk az 1 kcm enzimkivonatot. A reakcióelegyet a tabletta által biztosított pH 7,0-en, 50 °C-on, állandó rázatás közben inkubáltuk. A párolgás megakadályozására a lombikokat alumíniumfóliával fedtük be.

A reakcióelegyeket 0–20 perc között, különböző ideig inkubáltuk. 2 vagy 5 perces időközönként, 1 kcm 0,5 M nátriumhidroxiddal (pH = 11,7) 2–2 mintában

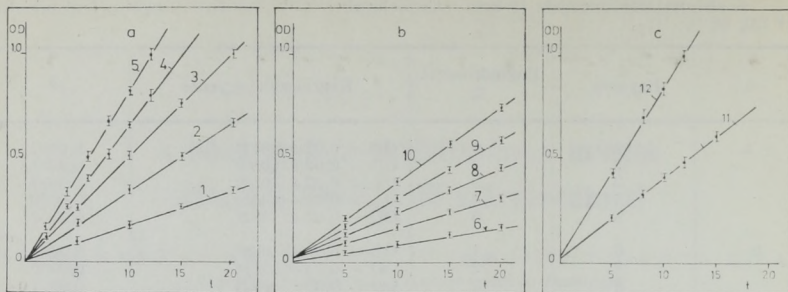
1. táblázat

**Az 1977. évben aratott búzafajták fajlagos amiláz-aktivitása**

Búzafajta	Amiláz-aktivitás		
	E g <sup>-1</sup>	s	v%
Auróra .....	740	22,0	3,0
Kavkáz .....	415	7,0	1,7
Martonvásári 4 .....	404	11,0	2,7
Száva .....	243	1,5	0,6
Moisson .....	239	3,0	1,3
Jubilejnaja 50 .....	148	2,0	1,4
Bezosztaja 1 .....	141	1,5	1,1
Martonvásári 5 .....	135	2,0	1,5
Mironovszkaja 808 .....	99	1,3	1,3
Martonvásári 2 .....	89	1,7	1,9
Martonvásári 1 .....	84	1,0	1,2
Etoile .....	83	1,0	1,2
GK Fertődi 2 .....	77	2,0	2,6
Martonvásári 3 .....	74	1,3	1,8
Libellula .....	71	3,0	4,2

Kísérleti körülmények: 0,5%–3%-os enzimkivonatot tartalmazó 10 kcm reakcióelegyben a szubsztrátum: 2 db Phadebas Amylase Test tabletta, pH 7,0, 50 °C

E g<sup>-1</sup> = 10<sup>-3</sup> ΔOD min<sup>-1</sup>; g<sup>-1</sup>; s = szórás; v% = variációs együttható; n = 30 adatpár; SzD<sub>95</sub>% = 14 E g<sup>-1</sup>.

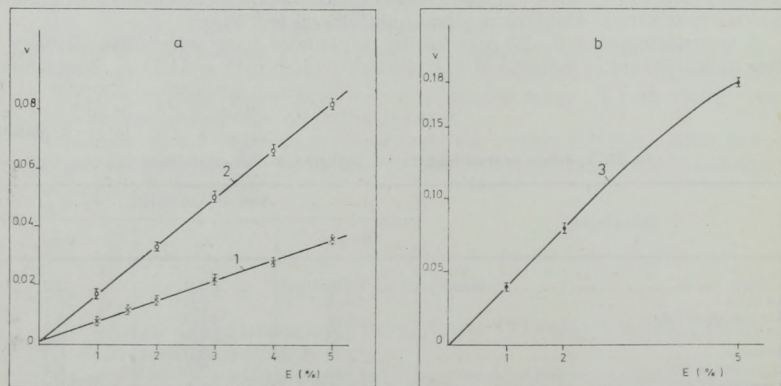


1. ábra

A reakcióidők és az extinkció-értékek közötti összefüggés (a) Bezostaja 1, (b) Martonvásári 1 és (c) Auróra búzafajták vizsgálatakor

inaktiváltuk az enzimet. A maradék szubsztrátumot a reakcióelegyből szűréssel eltávolítottuk. A színtenzitást (az extinkcióértéket) az azonosan kezelt, enzimet nem tartalmazó vakpróbával szemben 620 nm-en mértük (Spektromom 204, MOM gyártmány).

Az enzim-aktivitás meghatározásához legalább 3 enzim-tartalmú kivonatból 2–2 párhuzamos mérést végeztünk.



2. ábra

A reakcióelegy enzim-tartalma és a reakciósebesség közötti összefüggés  
A kísérleti körülmények megegyeznek az 1. ábrán leírtakkal

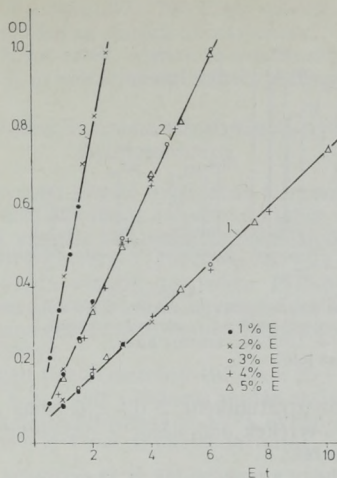
a) Egyenes	Búzafajta	Regressziós egyenes	$r^2$
1	Martonvásári 1	$v = 0,0009 + 0,0069E$	0,999
2	Bezostaja 1	$v = 0,0002 + 0,0164E$	0,98803

b) Az Auróra búzafajta enzim-tartalma és reakciósebessége közötti összefüggés

E = reakcióelegy enzim-tartalma %-ban

v = reakciósebesség ( $\mu\text{OD min}^{-1}$ ),  $r^2$  = a determinációs koefficiens. A függőleges vonal a szórás jeleli





3. ábra  
Selwyn-féle összefüggés

Búzafajták: 1. Martonvásári 1; 2. Bezostaja 1; 3. Auróra;  
E = 10 ml reakcióelegy enzim-tartalma (g búza),  
t = reakcióidő (min), OD = extinkció

A különböző időtartamokig rázatott minták szürleteinek extinkció-értékeit a reakcióidő függvényében ábrázoltuk. Az enzim-aktivitás meghatározásához az így kapott görbék lineáris szakaszait használtuk fel. Az egyenesek egyenleteit legalább 30 adatpárból számítottuk (5).

A regressziós egyenletben a független változó együtthatója adja meg az extinkció-változás ( $\Delta OD$ ) sebességét, amelyet az enzim-aktivitás mérőszámának tekintünk (dimenziója:  $\Delta OD \text{ min}^{-1}$ ). Az enzim-aktivitást a légszáras búza súlyegységére vonatkoztattuk és a továbbiakban fajlagos aktivitásnak nevezzük (dimenziója:  $\Delta OD \text{ min}^{-1} \text{g}^{-1}$ ). Egységnyi aktivitásúnak tekintettük az enzimet akkor, ha percnként  $10^{-3}$  extinkcióváltozást eredményez. 1 g légszáras anyagra vonatkoztatva 1 Egység =  $10^{-3} \Delta OD \text{ min}^{-1} \text{g}^{-1}$ .

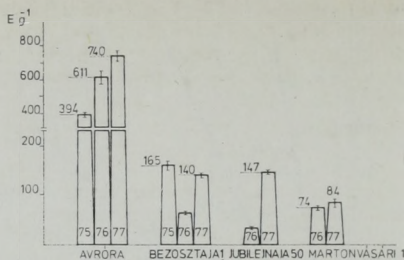
### Eredmények

A reakcióelegy összetételének és a megfelelő mérési körülményeknek kialakítására különböző amiláz-tartalmú búzafajtákkal végeztünk méréseket.

#### *Az extinkció-értékek és a reakcióidők közötti összefüggés*

Az extinkció-értékek és a reakcióidők közötti összefüggések vizsgálatára a Bezostaja 1 és Martonvásári 1 búzafajták, továbbá az Auróra búzafajta enzimkivonatát használtuk.

A Bezostaja 1 és a Martonvásári 1 búzafajták esetében, a reakcióelegyben az enzimkivonat-koncentrációját 1%–5% között, az Auróra búzafajtnál 1% és 2%



4. ábra

Azonos búzafajták fajlagos amiláz-aktivitása különböző évjáratban.

A kísérleti körülmények megegyeznek az 1. ábrán leírtakkal.

75 = 1975, 76 = 1976, 77 = 1977-ben aratott búza.

A függőleges vonal a szórást jelöli.

között változtattuk. Szubsztrátumként 2 db Phadebas Amylase Test tablettát használtunk. Az extinkció-értékek alakulását 0–20 percig mértük. Az eredményeket az 1. ábrán tüntettük fel.

Az ábrából kitűnik, hogy a reakcióidők és az extinkció-értékek között az összefüggés az esetek többségében 0–20 percig lineáris.

Az egyenesek meredeksége mutatja, hogy a percenkénti extinkció-változás közel arányos az enzimmennyiség koncentrációjával. Ugyancsak a meredekségekből olvasható le, hogy az Auróra búzafajtában az amiláz-tartalom nagyobb.

#### A reakciósebesség alakulása a reakcióelegy enzim-tartalmának függvényében

A reakciósebességet a reakcióelegy enzim-tartalmának függvényében a 2. ábrán ábráztuk.

A Bezostaja 1 és a Martonvásári 1 búzafajta esetében a vizsgált tartományban (1%–5% enzimmennyiség) a reakciósebesség az enzim-koncentrációjával lineárisan változott.

A nagyobb amiláz-tartalmú Auróra búzafajta esetében a reakciósebesség 2% enzimmennyiség-tartalomig arányos az enzimmennyiséggel.

#### Az enzim inaktiválódásának vizsgálata a reakció során

Annak vizsgálatára, hogy a reakció hőmérsékletén (50 °C) a 10–20 percig tartó inkubálás alatt nem inaktiválódik-e az amiláz, Selwyn (6) grafikus módszerét választottuk. Ennek értelmében a mért extinkció-értékeket az enzimmennyiség koncentrációja és az idő szorzatának függvényében tüntettük fel a 3. ábrán. Ha ugyanis szubsztrátum-telítettség áll fenn és az enzim a reakció során nem inaktiválódik, az így ábrázolt extinkció-értékek egy görbére esnek.

A 3. ábra mutatja, hogy az extinkció-értékek a három vizsgált búzafajta esetében egy-egy görbén helyezkednek el. Selwyn (6) szerint tehát a reakcióelegyben a vizsgált körülmények között az amiláz nem inaktiválódott.

#### A módszer alkalmazása néhány búzafajta fajlagos amiláz-aktivitásának meghatározására

Az 1977. évben aratott s általunk vizsgált 15 búzafajta fajlagos amiláz-aktivitását az 1. táblázatban foglaltuk össze.

A búzafajták enzim-aktivitása 67–740 E g<sup>-1</sup> között változott. Legnagyobb volt a fajlagos amiláz-aktivitása az Auróra búzafajtának. 7 búzafajta esetében 100 E g<sup>-1</sup>-nél kisebb az aktivitás-érték. Variancia-analízissel értékelve, a legkisebb szignifikáns differencia 95%-os valószínűségi szinten (SzD<sub>95%</sub>) 14 E g<sup>-1</sup>.

#### Különböző évjáratban termesztett, azonos búzafajták fajlagos amiláz-aktivitásának összehasonlítása

Három, illetve két egymást követő évjáratban termesztett, azonos búzafajták fajlagos amiláz-aktivitásának alakulását a 4. ábra mutatja.

Az Auróra búzafajta vizsgált tételeinek fajlagos amiláz-aktivitása 1975-ben 394 ± 14 E g<sup>-1</sup>, 1976-ban 611 ± 37 E g<sup>-1</sup>, 1977-ben 740 ± 22 E g<sup>-1</sup>.

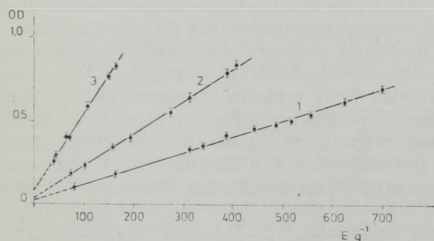
A Bezostaja 1 búzafajta vizsgált tételeiben 1975-ben 165 ± 3,0 E g<sup>-1</sup>-ot, 1977-ben 140 ± 1,5 E g<sup>-1</sup>-ot mértünk. A 25 egységnyi különbség igen erősen szignifikáns. Az 1976. évben lényegesen kisebb, mindössze 64 ± 2,8 E g<sup>-1</sup> enzim-aktív-tású tétel állt rendelkezésünkre.

A Jubilejnaja 50 vizsgált tételei esetében 1976-ban 36 ± 1,4 E g<sup>-1</sup>, 1977-ben ennek többszöröse 147 ± 2,0 E g<sup>-1</sup> volt a fajlagos amiláz-aktivitás.

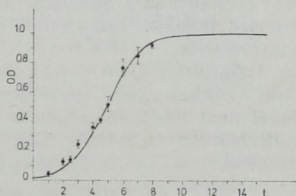
A Martonvásári 1 búzafajta tételeiben az 1975. évben 74 ± 4,0 E g<sup>-1</sup>, az 1977. évben igen hasonló 84 ± 1,0 E g<sup>-1</sup> volt az enzim-aktivitás.

#### A módszer gyors változata

Az amiláz-aktivitás mérés gyakorlati alkalmazhatóságának egyszerűsítése céljából kidolgoztuk a módszer gyors változatát. Ehhez további vizsgálatokat végeztünk búzafajták és búzakeverékek felhasználásával.



5. ábra



6. ábra

A fajlagos amiláz-aktivitás és a 10. percben mért extinkció-értéke közötti összefüggés. A kísérleti körülmények megegyeznek az 1. ábrán leírtakkal.

Egyenes	Enzimkonvont %	Regressziós egyenes	r <sup>2</sup>
1	1	OD = 0,02 + 0,00095E	0,9920
2	2	OD = 0,03 + 0,00190E	0,9960
3	5	OD = 0,08 + 0,00460E	0,9900

E = E · g<sup>-1</sup> = a fajlagos amiláz-aktivitás;

OD = extinkció. A függőleges vonal a szórást jelöli.

6. ábra

A reakcióidő és az extinkcióértékek közötti összefüggés kevés szubsztrátum használatakor.

A kísérleti körülmények: 10 kcm reakcióelegyben 1 db Phadebas Amylase Test tableta, pH 7,0, 50 °C, 5% enzimkonvont-koncentráció

A görbe egyenlete = OD = 1 / [1 + e<sup>3,9893 - 0,833t</sup>] r<sup>2</sup> = 0,9834

t = reakcióidő (min), OD = extinkció; r<sup>2</sup> = a determinációs koefficiens. A függőleges vonal a szórást jelöli.



1%, 2% és 5% enzimkivonat-tartalmú reakcióelegyekből meghatároztuk a fajlagos amiláz-aktivitást. Ennek függvényében tüntettük fel a 10. percben mért extinkció-értékeket (5. ábra).

Az enzim-aktivitás és az extinkció-értékek közötti lineáris összefüggést ábrázoló „kalibrációs” görbék segítségével egyetlen, 10 perc inkubálás után meghatározott extinkció-értékből közvetlenül leolvasható a termék enzim-aktivitása. A görbék elősegítik a gyakorlat számára az amiláz-aktivitás tájékoztató jellegű, gyors meghatározását.

### Következtetések

A hidrolázok enzim-aktivitásának méréséhez színezett szubsztrátumok előállításáról és alkalmazásáról többen beszámolnak (7, 8, 9, 10). Az új laboratórium technikák fejlődését követve dolgozták ki, klinikai vizsgálatokra, alfa-amiláz-aktivitás meghatározására a Phadebas Amylase Test nevű készítményt.

Kinetikai szempontok figyelembevételével a búza amiláz-aktivitásának meghatározására megpróbáltuk felhasználni a szubsztrátumot. A kinetikai vizsgálatok elvégzése azért volt szükséges, mert az enzim-aktivitás méréséhez különböző szerzők erősen eltérő szubsztrátum-koncentrációjú reakcióelegyeket alkalmaztak (2, 3, 11).

Méréseink során a szubsztrátum-koncentráció és a reakciósebesség összefüggésének vizsgálata azt mutatta, hogy 10 cm reakcióegyben 2 db Phadebas Amylase Test tablettával az extinkció bizonyos határok között lineárisan változott a reakció-idővel (1. ábra), ami összehasonlítható aktivitás-értékek nyereséhez alapkövetelmény. Az enzimkivonat koncentrációját a reakcióegyben 1%–2% között változtatva az enzimkoncentráció és a reakciósebesség között az összefüggés ugyancsak lineáris. A tapasztalatok szerint  $400 \text{ E g}^{-1}$ -nél kisebb fajlagos amiláz-aktivitású búza esetében ez a linearitás az 5% enzimkivonat-tartalomig fennáll (2. ábra). A Selwyn-féle (6) ábrázolási mód szerint az amiláz a vizsgált körülmények között nem inaktiválódik.

Előkísérletekben a 10 cm reakcióegybe 1 tablettá szubsztrátumot adagoltunk. Azonban ebben az esetben 5% Auróra enzimkivonattal az extinkció a reakció-idővel nem lineárisan, hanem szigmoid görbe szerint változott (6. ábra), ami a szubsztrátum telítettség hiányának jele (12). Ezért a meghatározás biztonsága érdekében  $10 \text{ cm}^3$  reakcióegyhez mindenképpen 2 tablettá Phadebas Amylase Test alkalmazása célszerű.

Az általunk vizsgált, 1977-ben aratott 15 búzafajta fajlagos amiláz-aktivitása  $71 - 740 \text{ E g}^{-1}$  között változott. Eltekintve az Auróra búzafajtától, a Kavkáz és a Martonvásári 4 búzafajták enzim-aktivitása szignifikánsan nagyobb a többi 12 búzafajtánál.

A Phadebas Amylase Test az ismertett körülmények között lehetővé teszi az aktivitás-értékek egyszerű meghatározását. A méréseket egyszerűsíti, hogy a tablettá formában levő szubsztrátum a puffer-sókat is tartalmazza. A módszer reprodukálhatósága kiváló. A középérték százalékában kifejezett szórása, a 15 búzafajta vizsgálati adatai szerint átlagban 1,8%-nak adódott.

A módszer gyors változata alkalmas az enzim-aktivitás tájékoztató jellegű meghatározására, ami különösen nagyszámú minta esetében előnyös.

Meg kell azonban jegyezni, hogy a Phadebas Amylase Test nem specifikus szubsztrátuma az alfa-amiláznak. Árpából izolált béta-amiláz készítmény (SERVA, HEIDELBERG) is hidrolizálta a színezett keményítő-származékot (13). A reakciótermék a búza enzimkivonatának béta- és alfa-amiláz-aktivitásától egyaránt származhat.

Eddigi kísérleti tapasztalataink megegyeznek Fuller (14), továbbá Barnes és munkatársa (1) megállapításával. A Phadebas Amylase Test szubsztrátum használatakor kapott amiláz-aktivitás-értékeket alkalmasnak ítéljük a búza és őrleményének mi-<sup>o</sup>sítására.

#### I R O D A L O M

- (1) Barnes, W. C. & Blackeney, A. B.: Stärke, 26, 193, 1974.
- (2) Regula, E., Köhn, M. & Wassermann L.: Lebensm.-Wiss. und Technol., 7, 57, 1974.
- (3) Drews, E., Fretzdorff, B. & Ocker, D.: Getreide Mehl und Brot, 30, 320, 1976.
- (4) Anon: Pharmacia AB Prospektus, Svédország, 675-13, 1974.
- (5) Sváb, J.: Biometriai módszerek a kutatásban. Mezőgazdasági Kiadó, Budapest, 1973.
- (6) Schwyn, M. J.: Biochim. Biophys. Acta, 105, 193, 1965.
- (7) Klein, B., Foreman, J. A. & Searcy, R. L.: Clinical Chem., 16, 32, 1970.
- (8) Marshall, J. J.: Anal. Biochem., 37, 466, 1970.
- (9) Kennedy, J. F.: Stärke, 28, 196, 1976.
- (10) Kennedy, J. F.: Stärke, 29, 114, 1977.
- (11) Mathewson, P. R. & Pomeranz, Y.: Journal of the AOAC, 60, 16, 1977.
- (12) Whitaker, J. R.: Principles of Enzymology for the Food Science, Marcel Dekker Inc., New York, 1972.
- (13) Párkányiné Gyárfás, A. és Vámosné Vigyázó, L.: Előadás az „Enzimes analízis és enzimdiagnosztika” kollokviumon, Mátrafüred, 1978.
- (14) Fuller, P.: Milling, 44, 29, 1972.

### ИЗМЕРЕНИЕ АМИЛАЗНОЙ АКТИВНОСТИ ПШЕНИЦЫ КРАШЕННЫМ ПРОИЗВОДНЫМ КРАХМАЛА

*А. Парканынэ-Дяrfаш и Л. Вámosнэ-Видязо*

Авторы для определения амилазной активности видов пшеницы и их помолов применяя в качестве субстрата таблетки Phadebas Amylase Test разработали чувствительный метод измерения.

Весь объем реакционной жидкости составляет 10 см<sup>3</sup>, содержащий 1 см<sup>3</sup> ферментного экстракта. Концентрация ферментного экстракта в реакционной жидкости 1-5%. В качестве субстрата использовали 2 шт. таблетки Phadebas Amylase Test. Инкубацию проводили при pH 7,0, 50°C, что обеспечила таблетка при посоянном встряхивании. В конце периода реакции фермент инактивировали 1 см<sup>3</sup> 0,5 М гидроокисью натрия. Интенсивность цвета измеряли идентичным образом обработанной фермент не содержащей слепой пробой при 620 нм.

В исследуемой реакционной жидкости зависимость периода реакции и значения экстинкции является линейной. Скорость реакции с концентрацией ферментного экстракта изменялась линейно. При исследованных условиях в реакционной жидкости (50° С; 10-20 мин. инкубация) амилаза не инактивировалась.

Удельная амилазная активность 15-ти видов пшеницы выращенных в 1977 году изменялась между 71-740 Е г<sup>-1</sup>. В случае большого количества образцов возможно применять быстрый вариант метода. Хорошо репродуцируемы метод измерения подходящий для определения качества пшеницы и их помолов.



*Párkány – Gyárfás, A.*

Zur Bestimmung der spezifischen Amylase-Aktivität von Weizenvarietäten und ihren Mahlprodukten wurde eine empfindliche Messmethode entwickelt, wobei Phadebas Amylase Test Tabletten als Substrat dienen.

Das Gesamtvolum des Reaktionsgemisches beträgt  $10 \text{ cm}^3$  einschliesslich  $1 \text{ cm}^3$  Enzymextrakt. Die Konzentration des Enzymextrakts im Reaktionsgemisch ist 1–5%. Zwei Phadebas Amylase Test Tabletten wurden als Substrat angewandt. Die Inkubation wurde bei einem durch die Tabletten gesicherten pH-Wert von 7,0 unter ständigem Rühren bei  $50^\circ\text{C}$  durchgeführt. Am Ende der Reaktionsperiode wurde das Enzym mit  $1 \text{ cm}^3$  0,5 M Natriumhydroxid inaktiviert. Die Farbintensität wurde bei 620 nm unter Anwendung einer auf die gleiche Weise behandelten enzymfreien Blindprobe gemessen.

Bei der Untersuchung der Reaktionsgemische ergab sich ein linearer Zusammenhang zwischen den Reaktionsperioden und den Extinktionswerten. Die Reaktionsgeschwindigkeit veränderte sich linear mit der Konzentration des Enzymextraktes. Im Reaktionsgemisch wurde die Amylase unter den angewandten Umständen nicht inaktiviert.

Die spezifische Amylase-Aktivität der untersuchten 15 im Jahre 1977 angebauten Weizenvarietäten veränderte sich zwischen 71 und  $740 \text{ U g}^{-1}$ . Im Fall einer grossen Anzahl von Mustern kann eine rasche Variante der Methode angewendet werden. Die gut reproduzierbare Messmethode ist zur Auswertung von Weizenvarietäten und ihren Mahlprodukten geeignet.

#### MEASUREMENT OF THE AMYLASE ACTIVITY OF WHEAT BY MEANS OF A STAINED STARCH DERIVATIVE

*A. Párkány – Gyárfás, L. Vámos – Vigyázó*

A sensitive method of measurement was developed for the determination of the specific amylase activity of wheat varieties and of their milling products, on using Phadebas Amylase Test pills as substrates.

The total volume of the reaction mixture is  $10 \text{ cm}^3$  including  $1 \text{ cm}^3$  of enzyme extract. The concentration of the enzyme extract is 1 to 5% in the reaction mixture. Two Phadebas Amylase Test pills served as a substrate. Incubation was carried out at  $50^\circ\text{C}$  under constant agitation at pH 7.0 ensured with the use of the pills. After the termination of the reaction period the enzyme was deactivated by adding  $1 \text{ cm}^3$  of 0.5 M sodium hydroxide. Colour intensity was measured at 620 nm, on using a blank test treated in the same way but containing no enzyme.

On investigating the reaction mixtures a linear correlation was found between reaction periods and extinction values. Rates of reaction changed linearly with the concentration of the enzyme extract. Under the conditions of the investigation ( $50^\circ\text{C}$ , 10–20 minutes of incubation) amylase has not been deactivated in the reaction mixture.

The specific amyase activities of the investigated 15 wheat varieties grown in 1977 varied between 71 and  $740 \text{ U g}^{-1}$ . In the case of a great number of samples a rapid alternative of the method can be applied. The well reproducible measuring method is suitable for the evaluation of wheat varieties and their milling products.