

## Hazai búzák lipoproteinjeinek vizsgálata I. Bevezetés, purotionin előállítás a magyar búzákból

LÁSZTITY RADOMIR, MONORI SÁNDOR, KOVÁCS ÁRPÁD

Budapesti Műszaki Egyetem Élelmiszerkémia Tanszéke

Érkezett: 1969. szeptember 12.

A búzafehérje kémia területén különösen az utóbbi évtizedben tapasztalt nagy fejlődés ellenére – amelyről számos összefoglaló jellegű mű (1, 2, 3, 4, 5, 6) ad áttekintést – a búzában található lipoproteinek vizsgálatára viszonylag kevés figyelmet fordítottak. Így a lipoproteinnel kapcsolatos ismereteink is eléggé hiányosak. Ugyanakkor egyre több gyakorlati megfigyelés és elméleti eredmény mutat rá arra, hogy a lipoproteinek, ill. még általánosabban a fehérje-lipid kölcsönhatás nagy szerepet játszik mind a búzalisztból készült tészták technológiai sajátosságainak, mind a sütőipari késztermékek minőségének alakulásában.

Már korábban tapasztalták azt a tényt, hogy siker kimosás során a búzaliszt foszfolipidjei csaknem teljesen megkötődnek és a továbbiak során már étterrel nem vonhatók ki a sikerkomplexből. Később elsőnek *Mc Caig* és *Mc Calla* (7) kísérletileg bizonyította, hogy búzafehérjék foszfolipid jelenlétében történő hidratációja esetén kölcsönhatás lép fel, melynek során fehérje-lipid komplexek jönnek létre. Ezt a megfigyelést a továbbiak során számos kutató megerősítette.

Az előbbieken vázoltak alapján elektronmikroszkópos és röntgenográfias vizsgálatok eredményeit is figyelembe véve dolgozta ki *Grosskreutz* (8) ismert sikermodelljét.

Fentiekben ismertetett eredmények kétségtelenné teszik azt, hogy a hidratált búzafehérjék és foszfolipidek közötti kölcsönhatás eredményeképpen fehérje-lipid komplexek jönnek létre. Nyitva marad azonban az a kérdés, hogy a képződő nedves sikerben, ill. a tésztában kizárólag ilyen másodlagosan keletkezett fehérje-lipid komplexek vannak jelen, vagy pedig a kiindulási nyersanyagban a búzalisztben már eleve jelen vannak lipoproteinek (proteolipidek), amelyek a siker, ill. tésztaszervezetbe is belekerülnek.

A felvetett kérdésre első közelítésben akkor kaphatunk választ, ha megvizsgáljuk, kivonható-e szerves oldószerral (tehát a fehérjék hidratálása nélkül) a búzalisztból fehérje-lipid komplex. Az utóbbi két évtizedben végzett kutatások, amelyekről többek között *Rohrlich* és *Niederauer* (9) ad összefoglalót, azt bizonyították, hogy a búzaliszt tartalmaz ilyen fehérje-lipid komplexeket.

*Balls* és *tsai* (10, 11) búzaliszt petroléteres extraktjából purotionin nevű fehérjét izoláltak, amelyet viszonylag nagy tisztán, arginin és tirozin tartalom jellemezett. Feltételezték, hogy a purotionin lipoprotein fehérje része, a teljes lipoprotein izolálását, ill. a lipid rész közelebbi vizsgálatát nem végezték el.

Ellenáramú megoszlásos extrakcióval, kromatográfias módszerekkel többek között *Carte* (12), *Fisher* és *Broughton* (13), valamint *Cookson* és *tsai* (14) különítették el búzalisztból lipoproteineket.

Érdekesek ebből a szempontból *Sziszakjan* és *tsai* (15), valamint *Graham* és *tsai* (16) bioszintézissel kapcsolatos kutatásai, amelyek rámutattak, hogy a növényi magokban folyó fehérjebioszintézisben a lipoproteinek is szerepet játszanak.

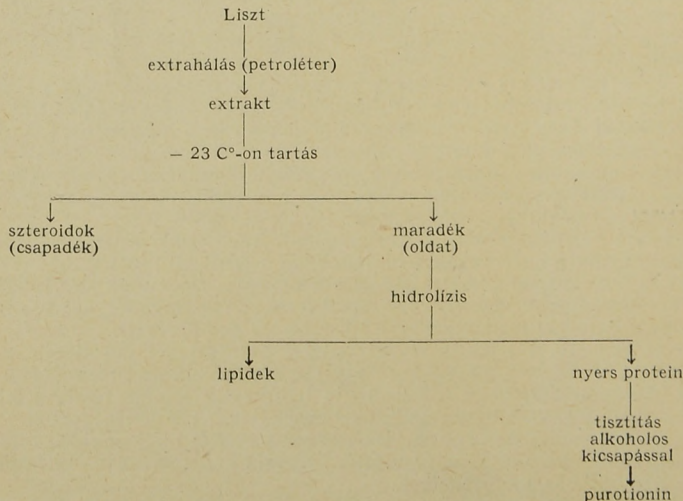
A vázlatosan felsorolt eredmények azt mutatják, hogy a búzában és más gabonákban megtalálhatók a lipoproteinek, amelyeket a tézstakészítés során keletkező újabb lipid-fehérje komplexek egészítenek ki. Ugyanakkor az is látható, hogy még kevés kísérlet történt, ill. nem sikerült pontosan definiált lipoproteineket előállítani, nem történt még a lipoproteinek részletesebb szerkezetének, a fehérje, ill. lipid komponensek összetételének, eloszlásának részletesebb, behatóbb vizsgálata. Csak a purotionint tanulmányozták részletesebben. Így *Redman és Fisher* (17), *Axford és tsai* (18), *Nimmo és tsai* (19), *Fisher, Redman és Elton* (20) elektroforézises, molekulaszűréses vizsgálatokkal több komponensre bontották a purotionint és meghatározták azok molekulásúlyát, aminosav összetételét.

Érdekesekek *Rohrlich és tsai* (9, 21, 22) vizsgálatai, akik búzából, rozsból és zabból proteolipidet állítottak elő és elektroforézis, vékonyrétegekromatográfiás technikával tanulmányozták, mind a fehérjerész, mind a lipidrész összetételét, komponenseit.

Az intézetünkben folyó gabonafehérje kutatás keretében foglalkozunk hazai búzák lipoproteinjeinek tanulmányozásával. A széles körű vizsgálatok végső célja a búza fehérje-lipid komplexek szerkezetének, valamint technológiai jelentőségének behatóbb megismerése. Jelen közleményünkben hazai búzából elválasztott purotionin tanulmányozásával kapcsolatos eredményeket ismertetünk.

### A purotionin előállítása

A purotionin előállítását 1968. évi termésű búzából örölt BL 112-es típusú lisztből végeztük. A kinyerés menete lényegében a *Balls és tsai* (10, 11) részéről ismertett módszer szerinti volt néhány módosítással, amelyek az előállítás meggyorsítását célozták. Egy-egy menetben 16 kg lisztet dolgoztunk fel. A purotionin előállításának menetét a következő vázlat szemlélteti.



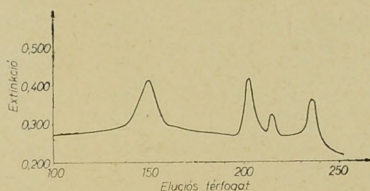
Az előállított nyers protein mennyisége lisztre számítva 0,4 g/kg, míg a tisztított készítményből a kitermelés 0,1 g/kg volt. A tisztított purotioninkészítmény nitrogéntartalma Kjeldahl módszerrel meghatározva 16,8% volt.

## A purotionin molekulaszűréses frakcionálása

A frakcionálás során a következőképpen jártunk el: A gélszűrést Sephadex G-75-ös töltetű  $2,5 \times 55$  cm-es nagyságú oszlopon végeztük.

A Sephadex G-75-ös port desztillált vízben szuszpendáltuk, majd a gélt 24 óráig duzzasztottuk. A duzzasztott géllal 24 óra alatt töltöttük fel az oszlopot. A gélben nem szabad ferde zónáknak, csatornáknak lenni. A homogenitás kialakítására az eluáló oldatot 18 órán át vezettük a gélen keresztül. Az eluens 400 ml piridin, 580 ml víz és 20 ml ecetsav elegyből állt (puffer).

A frakcióeloszlást az 1. ábra szemlélteti. Jól látható, hogy a készítmény négy jól elválasztható frakcióra bontható. A négy frakció molekulásúlya 34 200, 14 300, 11 700 és 8 200 értéknek adódott az ismert molekulásúlyú fehérjékkel (tripszin és pepszin) végzett összehasonlító frakcionálás, ill. számítás alapján.



Az adatok azt mutatják, hogy a 3 kisebb molekulásúlyú komponens közel áll molekulásúlyát tekintve az angol, német, ill. amerikai búzákból kivonható purotionin készítményekhez. Az első, nagyobb molekulásúlyú frakció feltehetően a hasonló molekulásúlyú egyéb búzafehérjefrakciókból (albumin, globulin, gliadin) származhat, amelyek elválasztása az alkalmazott preparálási módszerrel nem biztosítható tökéletesen.

További munkánk nagyobb mennyiségű frakciók összegyűjtésére és további tisztítására irányul.

### A purotionin készítmény aminosav összetételének vizsgálata

A fehérjekészítmény aminosav összetételének vizsgálata során a következőképpen jártunk el:

Perhangyasavas oxidáció (23) után a hidrolizist (24) a fehérjére számított 100-szoros mennyiségű 6 N-(desztillált) sósavval,  $100-105^{\circ}\text{C}$ -on, 24 órán át, ampullában végeztük. A hidrolízis lejátszódása után világos színű folyadékot kaptunk, de a kondenzációs reakciók miatt fekete csapadék is keletkezett. Az oldatot bepároltuk, vízzel felöntöttük és ismét bepároltuk.

Az analízist Bio-Cal 200 típusú aminosavanalizátorral végeztük.

### Technikai adatok

Két oszlopos elválasztási módszert alkalmaztunk. Aminex A-6-os ioncserélő gyantán dolgoztunk, a bázikus aminosavakat Aminex A-5-ös gyantán választottuk el.

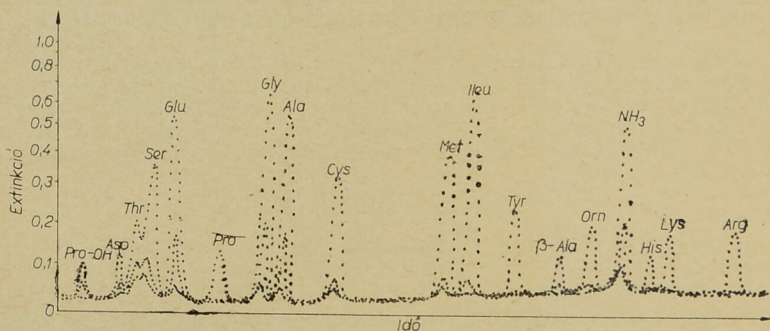
A temperálás hőmérséklete:  $55^{\circ}\text{C}$ .

A kromatogramot normál küvetákkal vettük fel.

Az elválasztásra 4-féle puffert alkalmaztunk:

A puffer: 3,25 pH,	Na <sup>+</sup> koncentráció: 0,2	mól/liter
B „ 4,25 pH,	Na <sup>+</sup> „ 0,2	„
C „ 5,28 pH,	Na <sup>+</sup> „ 0,38	„
D „ 4,26 pH,	Na <sup>+</sup> „ 0,35	„

Az aminosavanalízisnél a színezés ninhidrinnel történt. A kapott kromatogramot a 2. ábra mutatja.



2. ábra

A százalékos aminosavösszetételt az 1. táblázat foglalja össze.

1. táblázat

Aminosav	%	Aminosav	%
Aszparaginsav	3,62	Cisztein	10,92
Treonin	5,94	Metionin	3,16
Szerin	7,67	Izoleucin és leucin	11,75
Glutaminsav	5,42	Tirozin	6,62
Prolin	3,81	Lizin	3,36
Glicin	6,74	Hisztidin	0,34
Alanin	9,22	Arginin	7,14

Összehasonlítva az aminosav összetételei adatokat a külföldi búzákból kapott purotionin vizsgálati eredményekkel megállapítható, hogy hasonló jellegű fehérjékről van szó. A hazai búzák purotioninjára is jellemző a nagy cisztein, ill. cisztin tartalom, számottevő a bázikus aminosavak részaránya, bár kisebb, mint a külföldi búzában. A többi aminosavaknál közel azonos vagy nem túl távol álló részarányok állapíthatók meg.

Behatóbb összehasonlításra csak nagyobb mennyiségű tovább tisztított készítmény összehasonlítása után kerülhet sor, amelyeket jelenleg, ill. a jövőben folytatunk.

- (1) Society of Chemical Industry: Recent Advances in Processing Cereals. Monograph No. 16. London. 1962.
- (2) *Lásztity, R.*: Sütőipar 13, 57, 1966.
- (3) *Vakar, A. B.* — *El Miligi, A. K.* — *Tolsinszkaja, E. S.* — *Zabrodina, T. M.*: Biochim. Zerna i Chlebopecsenyija 7, 3, 1964.
- (4) *Kaczkowsky, J.*: Post. Biochem. 13, 326, 1965.
- (5) *Bloksma, A. H.*: Wallerstein Lab. Com. 21, 215, 1958.
- (6) *Elton, G. A. H.* — *Ewart, E. A. D.*: Bakers Digest 41, 36, 1967.
- (7) *Mc Caig, T. D.* — *Mc Calla, A. G.*: Canad. J. Res. 19, 163, 1941.
- (8) *Grosskreutz, J. C.*: Cer. Chem. 38, 336, 1961.
- (9) *Rohrlich, M.* — *Niederauer, Th.*: Fette, Seifen, Anstrichmittel 69, 63, 1967.
- (10) *Balls, A. K.* — *Hale, W. S.*: Cer. Chem. 17, 243, 1940.
- (11) *Balls, A. K.* — *Hale, W. S.* — *Harris, T. H.*: Cer. Chem. 19, 279, 1942.
- (12) *Carter, H. E.* — *Mc Cluer, R. H.* — *Slifer, E. D.*: J. Am. Chem. Soc. 78, 3755, 1956.
- (13) *Fisher, N.* — *Broughton, M. E.*: Chem. and Ind. 869, 1960.
- (14) *Cookson, M. A.* — *Ritchie, M. L.* — *Coppock, J. B. M.*: J. Sci. Fd. Agric 8, 105, 1957.
- (15) *Graham, J. S. D.* et al.: Nature 196, 967, 1962.
- (16) *Sziszakjan, N. M.* et al.: Biohimija 28, 326, 1963.
- (17) *Redman, D. G.* — *Fisher, N.*: J. Sci. Fd. Agric. 19, 651, 1968.
- (18) *Axford, D. W. E.* — *Elton, G. A. H.* — *Fisher, N.* — *Redman, D. G.*: Milling 48, 29, 1968.
- (19) *Nimmo, C. C.* — *O'Sullivan, M. T.* — *Bernardin, J. E.*: Cer. Chem. 45, 28, 1968.
- (20) *Fisher, N.* — *Redman, D. G.* — *Elton, G. A. H.*: Cer. Chem. 45, 48, 1968.
- (21) *Rohrlich, M.* — *Niederauer, Th.*: Fette, Seifen, Anstrichmittel 69, 226, 1967.
- (22) *Rohrlich, M.* — *Niederauer, Th.*: Fette, Seifen, Anstrichmittel 70, 58, 1968.
- (23) *Devényi, T.* — *Gergely, J.*: Aminosavak, peptidek, fehérjék. Budapest, 1963.
- (24) *Lásztity R. és tsai*: Élelmiszeripari speciális gyakorlatok. Budapest. 1968.

ИСПЫТАНИЕ ЛИПОПРОТЕИНОВ В ОТЕЧЕСТВЕННЫХ ПШЕНИЦАХ.  
I. ВВЕДЕНИЕ, ПОЛУЧЕНИЕ ПУРОТИОНИНА ИЗ ВЕНГЕРСКИХ ПШЕНИЦ

*Р. Ластить, Ш. Монори, А. Ковач*

Авторы сообщают результаты полученных при изучении получения пуротионина из отечественной пшеницы.

Пуротионин получали из пшеничной муки БЛ-112, молекулярный вес фракций и состав аминокислоты установили молекулярно — фильтрационным фракционированием.

UNTERSUCHUNG DER LIPOPROTEINE EINHEIMISCHER WEIZEN I.  
EINFÜHRUNG, DARSTELLUNG DES PUROTHIONINS AUS  
UNGARISCHEN WEIZEN

*R. Lásztity, S. Monori, Á. Kovács*

Die Verfasser beschreiben ihre durch Prüfung des aus einheimischen Weizen selbst gewonnenen Purothionins erhaltenen Resultate. Sie extrahierten das Purothionin aus Weizenmehl BL 112, bestimmten das Molekulargewicht der Fraktionen sowie die Aminosäurezusammensetzung durch Molekularsieb-Fraktionierung.

STUDY OF THE LIPOPROTEINS OF HUNGARIAN WHEATS.  
I. INTRODUCTION, PREPARATION OF PUROTHIONIN FROM  
HUNGARIAN WHEATS

R. Lásztity, S. Monori, Á. Kovács

Authors give an account on their results related to the study of purothionin prepared from Hungarian wheats. Purothionin was prepared from BL 112 wheat flour, the molecular weight of the fraction was established by molecular sieve fractionation and amino acid composition was determined.

**A szerkesztőbizottsághoz a következő dolgozatok érkeztek**

- Telegdy Kovács László, Berndorfjénné Kraszner Éva, Péterfalvi Mária és Gábor Tamás:* Adatok a pangaminsav (B<sub>15</sub> Vitamin) természetes előfordulásához: gabonamagvak pangaminsavtartalma. (1969. szept. 11.)
- Lásztity Radomir, Monori Sándor és Kovács Árpád:* Hazai búzák lipoproteinjeinek vizsgálata. I. Bevezetés, purothionin előállítása magyar búzákból. (1969. szept. 12.)
- Dworschák Ernő és Hegedűs Mihály:* Kétdimenziós vékonyréteg kromatográfia alkalmazása aminosavak spektrometriás és denzitometriás meghatározására. (1969. szept. 12.)
- Aczél Attila:* Konzervipari folyamatok rétegekromatográfiás követése. (1969. szept. 12.)
- Simkó Nándorné és Mattyasovszky Pál:* Mustok és borok nitráttartalmának fotometriás meghatározása. (1969. szept. 18.)
- Ormay László:* Száraztészta bakteriológiai vizsgálatok fontosabb tapasztalatai. (1969. szept. 19.)
- F. Nagy Erzsébet és Luzsányi Laura:* Adatok a nagyüzemileg gyártott száraztészta *Staphylococcus aureus* fertőzőtségének problémájához. (1969. szept. 20.)
- Tarján Róbert:* Táplálkozástudomány és élelmiszerkémia. (1969. szept. 20.)
- Blazovich Márta és Spanyol Pál:* Kapszaicin meghatározási módszer kidolgozása oleorezin és más nagy hatóanyag-tartalmú készítmények minősítésére. (1969. szept. 30.)
- Gál Ilona:* A mikrobiológia szerepe élelmiszerek minőségvizsgálatában. (1969. okt. 6.)
- Lóránt Béla:* A differenciáltermoanalitika néhány élelmiszeralitikai alkalmazása. (1969. okt. 15.)
- Kacsóvics Miklós:* Adatok egyes élelmiszerek radiológiai vizsgálati eredményeihez. (1969. okt. 15.)
- Szerey Ida:* Hús és húskészítmények kötőszövettartalmának meghatározása hidroxiprolin tartalmuk alapján. (1969. okt. 15.)
- Lindner Károly:* Trópuson termelt zöldség- és gyümölcsfélék szabad aminosavai. (1969. okt. 31.)