

A búza néhány vízdoldható komponensének vizsgálata csírázás alatt

GASZTONYI KÁLMÁN, FARKAS JÓZSEFNÉ
ÉS HORVÁTH LÓRÁNDNÉ

Kertészeti Egyetem – Élelmiszeripari Főiskola, Budapest

Érkezett: 1972. március 10.

A búza évezredek óta az emberiség legfontosabb kenyérgabonája. Mindazok a tényezők, amelyek befolyásolják a rendelkezésünkre álló búza mennyiségét és minőségét, mindig az agrotechnikai, malom-sütőipari és élelmiszerkémiai kutatás előterében álltak.

A búzanövény élete a mag csírázásával indul meg. Ez a folyamat a termesztés nélkülözhetetlen előfeltétele, a kenyérbélesztésre szánt tétéleknél azonban nemcsak felesleges, de kifejezetten értékesöklentő, károsító hatású. A csírázás alatt lejátszódó folyamatok alaposabb ismerete tehát mind a termesztő, mind a lisztet-kenyeret gyártó szakemberek számára hasznos dolog.

Tanszékünkön évek óta foglalkozunk a csírázás biokémiai mechanizmusának vizsgálatával. Jelenlegi beszámolóinkban a nyugvó, illetve csírázó magvak vízdoldható frakciójában található cukrok és aminosavak minőségi-mennyiségi arányának változásáról szeretnénk képet adni.

Vizsgálatainkhoz egy jól definiált magyar (Fertődi 293, 1970-es évszám), és egy szovjet (Bezostája 1., 1970-es) búzafajtát használtunk. Mindkét minta beérett, csírázásmentes szemeket tartalmazott, amit a Hagberg-féle esési szám megállapításával (1,2) és farinográfus vizsgálattal ellenőriztünk.

A csírázás megindítása érdekében a szemek eredeti 12–13%-os nedvességtartalmát 30%-ra emeltük és 9 napon keresztül ezen az értéken tartottuk. A harmadik, ötödik és hetedik napon vettünk ki részmintákat, melyeknek a nedvességtartalmát vákuum-szárítással néhány óra alatt 10% alá csökkentettük. Így szakítottuk meg a csírázási folyamatot. A leszártított szemekből teljes örleményt készítettünk és a továbbiakban ebből állítottunk elő kivonatot.

A csíráztatás eredményét az egyes búzaminák maltózsámának fotometriás meghatározásával (3) és a Hagberg-féle esési szám megállapításával mértük fel.

A maltóz-szám meghatározását 5 g örlemény 50–60 ml vízzel készült szuszpenziójának egy óráig, 30 °C-os vízfürdőben végrehajtott autolízisével indítottuk. Ezután bázisos ólomacetáttal kicsaptuk a fehérjéket, inaktívtuk az enzimeket és nátriumsulfátos derítés után a szűrletet dinitroszalícilsavas reagensevel elegyítettük. A szokásos hőkezelés után 500 nm hullámhosszon végeztük el az extinkció mérését. Az előzetesen készített maltóz-kalibrációs görbe segítségével állapítottuk meg a maltóz-számot. Az 1. táblázat mutatja a Bezostája 1. búzamintha fotometriás vizsgálatának eredményeit.

A maltóz-szám értékek alakulása tehát azt mutatja, hogy a nedvesítés hatására a csírázás kellő ütemben megindult, mert az aktíválódó amilázok az autolízis közben fokozták maltóz-termelésüket.

A Bezostája 1. búza maltóz-számának változása csírázás közben

A csíráztatás időtartama (nap)	Extinkció	Maltóz (mg %)
0	0,592	25,2
3	0,878	34,5
5	1,360	50,5
7	1,445	52,3

A Hagberg-féle esési számot mind kézi, mind félautomata készüléken megállapítottuk. Az eredményeket a Bezostája 1. búzamintával kapcsolatban a 2. táblázat foglalja össze.

2. táblázat

A Bezostája 1. búza esési számának változása csírázás közben

A csírázás időtartama (nap)	Kézi készülék	Félautomata készülék
0	268	284
3	109	103
5	61	60
7	60	60

Mindkét készüléken végzett meghatározás azt mutatja, hogy 5 napi csírázás után a búzaminta elérte a Hagberg-féle módszerrel mérhető legkisebb értéket, tehát erőteljesen csírázott volt.

Az extrahálásnál 10 g örleményt 50 ml és 25 ml hígított etilalkohollal két lépcsőben rázattunk, majd az elegyet centrifugáltuk. Az egyesített tiszta oldatokat infra lámpa alatt óvatosan szárazra pároltuk és a maradékot 3 ml 80%-os etilalkohollal felvettük.

Ezt az alkoholos oldatot használtuk fel az aminosavak és cukrok papírkromatográfiás vizsgálatára. Ezeknek az anyagoknak a szétválasztására ugyanis a jelenleg ismert és számunkra elérhető módszerek közül a papírkromatográfia bizonyult a legmegfelelőbbnek. A kromatogramok kvantitatív kiértékelését a denzitometerek közé sorolható, új angol műszerrel, a KÉKI tulajdonában levő Chromoscan-nal végeztük. Ez a berendezés a foltok fényreflexiójának mérése és regisztrálása alapján lehetővé teszi a papírcsíkon levő komponensek mennyiségének elfogadható pontosságú meghatározását.

Aminosavak arányának változása

A búza csírázásának megindulásakor a fehérjebontó, papain-típusú enzim aktivitása ugrásszerűen megnövekedik, amelynek növényéletlenül az a rendeltetése, hogy segítségével a vízdíszhatatlan tartalékfehérjék vízdíszhatóvá, tehát az embrió számára felhasználhatóvá váljanak. Vizsgálatainkkal arra kívántunk választ kapni, hogy ez a közismert proteázaktivitás növekedés milyen módon befolyásolja a nyugvó és csírázó szemek szabad aminosav-készletét.

Az aminosavak szétválasztásához és mennyiségének meghatározásához leszálló papírkromatográfiát alkalmaztunk, futtatószerként butanol-ecetsav-víz 4:1:1 arányú elegye szolgált. A felvitt anyagmennyiség 20 mikroliter, a szétválasztási idő 22 óra volt. Előhívószereül, 105 °C-os szárítás után 0,4%-os, acetonos ninhidrin-oldatot használtunk. Ismételt szárítás után, a denzitométeres méréshez szükséges egyöntetű szín kialakítása és rögzítése céljából, acetonos réznitrát oldatot permeteztünk a papírra és a kromatogramokat ammóniás gőzben fixáltuk.

Irodalmi adatok, például *Linko* (4,5) vizsgálatai szerint, amit saját eredményeink is igazoltak, a búzában 18 szabad aminosavat lehet kimutatni. Mind a 18 aminosavat azonban mi nem tudtuk teljesen szétválasztani, mert a két-dimenziós futtatás a denzitométeres kiértékelést nem tenné lehetővé. Az aminosavak mintegy 10 foltban tömörültek, amelyek növekvő R_f érték szerint a következő aminosavakból álltak:

1. folt aszparagin, arginin, hisztidin és lizin
2. folt glutaminsav és aszparaginsav
3. folt szerin és glicin
4. folt treonin és glutamin
5. folt alanin
6. folt prolin
7. folt gamma-aminovajsav és tirozin
8. folt metionin, triptofán és valin
9. folt fenilalanin
10. folt izoleucin és leucin

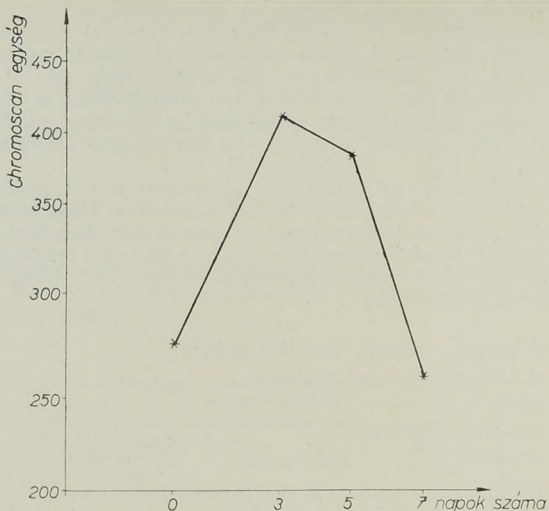
A szétválasztás elégtelensége miatt a csoportosan előforduló aminosavakat együtt értékeltük. Eredményeinket, az idő rövidsége miatt csak az egyik, a fertődi 293-as búzán mutatjuk be. Ezt a megoldást lehetővé teszi az a megfigyelésünk, hogy a két búzafajta vizsgálata nem mutatott szignifikáns különbséget.

Első ábránkon a fertődi búza összes aminosav-tartalmának (ninhidrin-pozitív anyagainak) változását mutatjuk be a csírázási idő függvényében. Az első három nap alatt az aminosavak mennyiségének nagyobb mérvű növekedését, később fokozatos csökkenését tapasztaltuk. A diagram ordinátáján alkalmazott Chromoscan-egység a műszer által rajzolt görbe és az alapvonal közötti terület nagyságával, vagyis a kromatogramon levő folt méretével és színintenzitásával arányos. Az első ábrát a 3. táblázat adatai alapján készítettük.

3. táblázat

Fertődi búza összes aminosavtartalmának
(ninhidrin-pozitív anyagainak)
változása a csírázási idő függvényében

Napok száma	Chromoscan egység
0	284
3	398
5	377
7	252



1. ábra

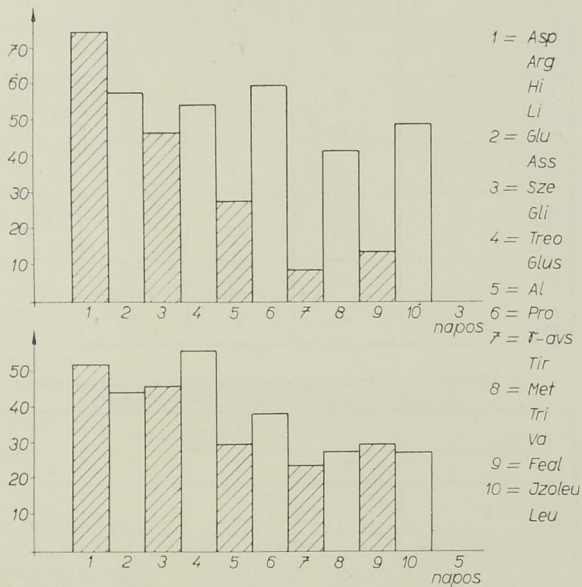
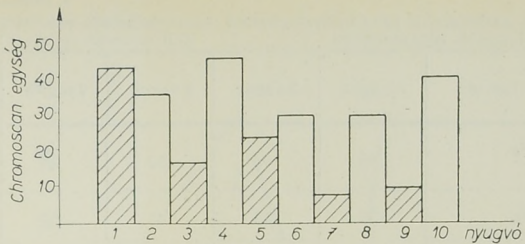
Az egyes aminosavak, illetve aminosav-csoportok mennyiségének változásáról a 4. táblázat és a második ábra ad felvilágosítást. Az aminosavak, növekvő Rf érték szerint, az előbb ismertetett csoportosításban szerepelnek. A foltok intenzitását itt is Chromoscan-egységekben fejeztük ki.

Ezen adatok alapján lehetőség nyílt annak vizsgálatára, hogy a csírázás alatt az egyes aminosavak jelenléti aránya azonos vagy eltérő jelleggel változik-e. Az eredmények azt mutatják, hogy ez a koncentráció változás egyes aminosavaknál más-más ütemű és irányú. A legjellegzetesebb eseteket az 5. táblázatban és a harmadik ábrán oly módon mutatjuk be, hogy az egyes aminosavakat, illetve aminosav-csoportokat az összes aminosav százalékában fejeztük ki. Itt látható, hogy az első három napban bemutatott aminosavak mennyisége az össz-aminosavtartalom növekedésével arányosan nő. Ezután egyértelmű csökkenés figyelhető meg. Szembetűnő kivételt csak a gamma-aminovajsav képvisel, amely a csírázás előrehaladásával az aminosavak között feldúsul.

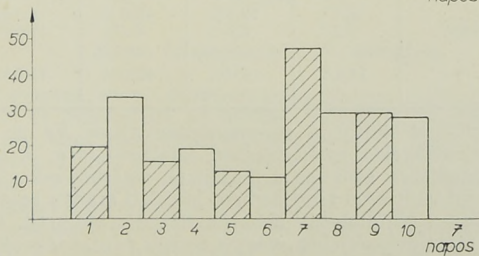
A csírázó búza aminosav-készletének vizsgálata alapján a következő megállapításokat tehetjük:

1. A csírázás alkalmával aktiválódó proteázok a folyamat első szakaszában jelentősen növelik a búza aminosav-készletét. A jelek szerint tehát az új növényke ekkor még nem képes felhasználni a rendelkezésére bocsátott valamennyi aminosavat. Ez az állapot az általunk létrehozott csíráztatási körülmények között, mintegy 72 óráig jellemzi a rendszert.

2. Az embrió növekedésének meggyorsulása az aminosavak fokozott ütemű felhasználására vezet. Ez a felhasználás, feltehetően, nagyrészt az új növényke szervezetébe való beépülést, kisebb részben pedig energiatermelést jelent. Ezt a megállapítást mind az össz-aminosav-készlet meghatározása, mind az egyes aminosavak arányának vizsgálata alátámasztja.



- 1 = Asp
- Arg
- Hi
- Li
- 2 = Glu
- Ass
- 3 = Sze
- Gli
- 4 = Treo
- Glus
- 5 = Al
- 6 = Pro
- 7 = T-avs
- Tir
- 8 = Met
- Tri
- Va
- 9 = Feal
- 10 = Jzoleu
- Leu



2. ábra

Az egyes aminosavak (aminosavcsoportok) mennyiségének változása a tárolási napok függvényében (Chromosan egységek)

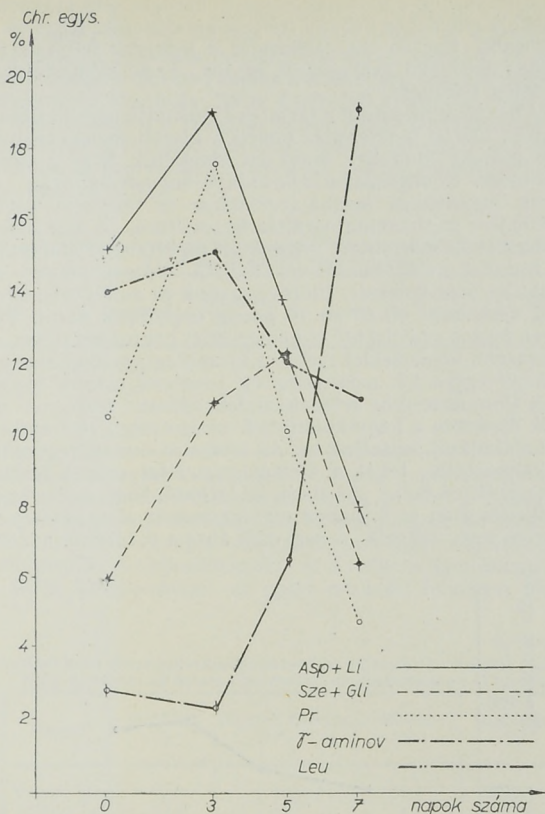
Aminosavak	Nyugvó	3 napos	5 napos	7 napos
Asp NH ₂ Arg Liz	43	75	52	20
Glu NH ₂ Aszp	36	58	45	34
Szer Gli	17	47	46	16
Thr Glu	46	55	56	20
Ala	24	28	30	13
Pro	30	60	38	12
γ-NH ₂ vajsav Tir	8	9	24	48
Met Tri Val	30	42	28	30
FE	10	14	30	30
Ileu Leu	40	50	28	29

5. táblázat

A legjellegzetesebb aminosavak változása a csírázás alatt, az összes aminosav százalékában kifejezve

Aminosav	Napok száma			
	0	3	5	7
Asp NH ₂ Arg Liz	15,1 %	19 %	13,8 %	7,9 %
Szer Gli	5,9 %	11,8 %	12,2 %	6,3 %
Pro	10,5 %	17,5 %	10,0 %	4,7 %
γ-NH ₂ -vajsav Tir	2,8 %	2,2 %	6,4 %	19,0 %
Leu Ileu	14,0 %	15,0 %	12,0 %	11,0 %

3. Érdekes jelenséget mutat a gamma-aminovajsav. Ez az aminosav a nyugvó bűzában jelentéktelen mennyiségben található meg. A megnövekedő proteáz-hatás következtében azonban a hidrolizált sikérből sok gamma-aminovajsav keletkezik, ami feldúsul a rendszerben, jelenléti aránya egyre növekedik. Nagy része feltehetően a glutaminsav dekarboxileződéséből ered. Mindebből az következik, hogy a tartalékfehérjében, vagyis a siker peptid-láncaiban sok ilyen aminosav található, amelyre azonban az embriónak még nincs szüksége. A növekvő szilkevéiben és gyümölcskéiben nincsenek is sikérszerű fehérjék. Ez a megfigyelés jó összhangban van *Lásztity* (6) utóbbi éveiben végzett sikérszerkezeti vizsgálataival.



3. ábra

Mono- és oligoszaharidok változása

A beérett magvak mono- és oligoszaharidjainak, az ún. precukornak mennyiségi arányát és összetételét az utóbbi években külföldön is, hazánkban is többen felmérték. Ezek az eredmények azt mutatják, hogy a búzaszem szárazanyagára számítva 2–3% cukrot tartalmaz. Vizsgálataink szerint (7) a hazai BL 55-ös lisztek 77%-ának precukortartalma 1,2–1,6% között van.

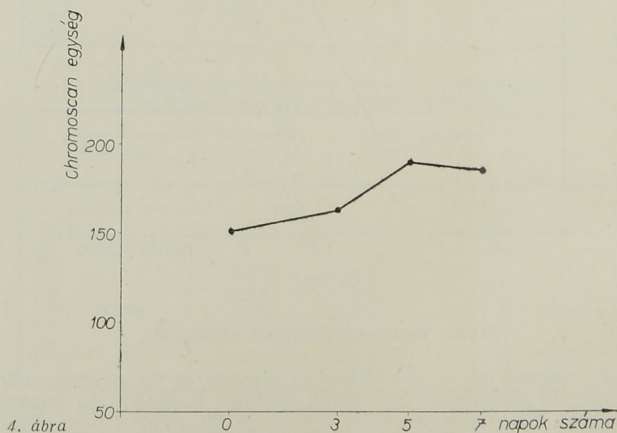
A precukorban a monoszaharidok közül a glükózt, fruktózt és galaktózt, az oligoszaharidok közül pedig a szaharózt, maltózt, raffinózt és glükodifruktózt találhatjuk meg. A beérett magvakban a glükóz, a fruktóz és a galaktóz mennyisége nagyon csekély. A precukor főtömege szaharóz. A maltóz aránya, a monoszaharidokhoz hasonlóan, ugyancsak kicsi. Feltehető, hogy jelenléte a nyugvó szemben is megfigyelhető minimális amilázhatás eredménye. A raffinóz mennyisége is csekély és biológiai rendeltetése nem ismeretes.

A glükofruktozának a gabonák olyan különleges oligoszaharidjai, amelyekben egy molekula glükózhoz néhány fruktóz kapcsolódik. Közülük a *glükodifruktóz* a legfontosabb. Ezt az oligoszaharidot a legújabb feltételezések szerint, a nagy tömegben jelenlevő szaharózzal együtt, a poliszaharidképzés közben is termékeként lehet tekinteni.

A csirázó búzában megindul a tartalék-keményítő mobilizálása és a fokozódó aktivitású alfa-, illetve béta-amiláz növeli a kisebb molekulású, vízoldható szénhidrátok arányát. Munkánk során azt vizsgáltuk, hogy a nyugvó és csirázó szemekben a mono- és oligoszaharidok aránya hogyan változik.

A cukrok mennyiségi meghatározásához és minőségi szétválasztásához leszálló, túlfolyásos papirkromatográfiát használtunk. A már ismertetett módon készült kivonatból 20 mikrolitert vittünk fel pipettával a startpontokra. Futattószerként butanol-piridin-benzol-víz 5:3:1:5 oldószerkeletet alkalmaztunk. Az elválasztás 48 órát igényelt. Előhívószertünk az anilin-difenilamin-foszforsav cukorreagens volt, amit 80 C°-on 10 percig engedtünk hatni. Tapasztalataink szerint nagyon fontos a hívási idő és hőmérséklet pontos betartása, mert hosszabb idő vagy magasabb hőmérséklet esetén a kromatogram alapszíne olyan mértékig elváltozik, hogy egyes kis mennyiségben jelenlevő cukrok foltját elfedi és a kromatogram Chromoscan-os értékelését lehetetlenné teszi.

Negyedik ábránkon a négy különböző csirázottságú részmintá összes cukortartalmának alakulását mutatjuk be. Az értékelés elve megegyezik az aminosavaknál alkalmazottal, tehát a Chromoscan által rajzolt teljes görbe alatti területeket hasonlítjuk össze. Az ábrán jól látható, hogy az összes cukortartalom kezdeti emelkedés után az 5. napon maximumot ér el, majd a további csirázás alatt lényegesen nem változik. A negyedik ábra a 6. táblázat adatait szemlélteti.



Összes cukortartalom Chromoscan egységekben kifejezve

0 napos	3 napos	5 napos	7 napos
150	162	189	183

A továbbiakban az egyes cukrok jelenléti arányát vizsgáltuk. Sikerült valamennyi, irodalmi adatok alapján várható mono- és oligoszaharidot megtalálnunk. Mennyiségi arányaik bemutatására a 7. táblázat és az ötödik ábra szolgál, amely a nyugvó, 3,5 és 7 napos búzák egyes cukorféleségeinek mennyiségét oszlopdiagramon ábrázolja. Itt az 1 jelzéssel a raffinóz, 2-vel a glükodifruktóz, 3-mal a maltóz, 4-gyel a szaharóz mennyiségét szemléltettük. Az 5. oszlop a glükózt és fruktózt együttesen jelképezi, mert a műszer a két cukor foltja között nem tér vissza az alapvonalra és így a két cukrot a denzitogramon egy lapos, elnyúló görbe reprezentálja.

7. táblázat

A búza cukorkomponenseinek mennyisége Chromosan egységekben kifejezve, a csirázási napok függvényében

Napok	Raffinóz	Glükodi-fruktóz	Maltóz	Szaharóz	Glükóz + fruktóz
0 nap	29	37	6	56	26
3 nap	22	28	7	53	26
5 nap	7	26	6	45	32
7 nap	9	12	19	56	22

A hatodik ábra az egyes cukroknak az összes cukortartalom belüli változását mutatja, az összes cukortartalomra vonatkoztatott százalékban kifejezve, a csirázási napok függvényében. Az ábra és a 8. táblázat jól szemlélteti, hogy a szaharóz a csirázás alatt lényeges változást nem mutat, a maltóz aránya viszont erőteljesen növekedik. A glükodifruktóz és a raffinóz koncentráció, ellentétben valamennyi többi komponenssel, az egész csirázási folyamat alatt intenzíven csökken.

8. táblázat

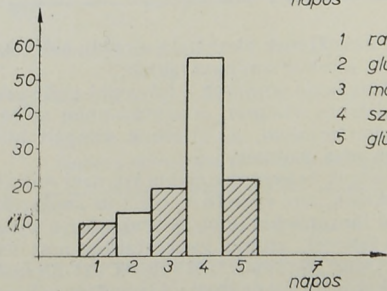
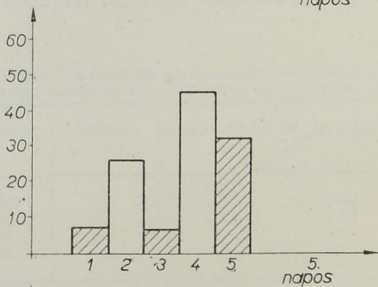
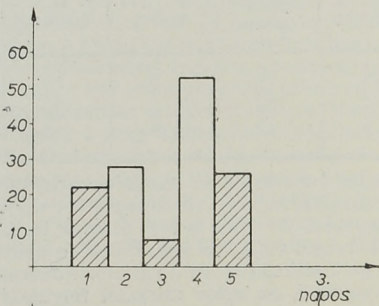
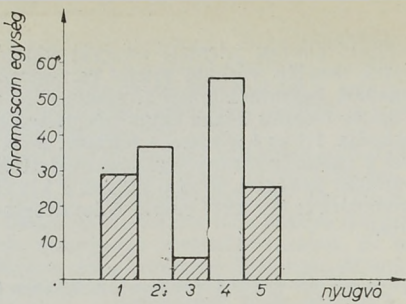
Fertődi búza egyes cukorkomponenseinek változása a csirázási napok függvényében, az összes cukortartalom százalékában kifejezve

Napok	Raffinóz %	Glükodi fruktóz %	Maltóz %	Szaharóz %
0 nap ...	13,0	16,6	2,7	25,1
3 nap ...	10,3	13,0	3,3	24,6
5 nap ...	4,4	—	3,4	26,0
7 nap ...	4,5	6,0	9,5	28,0

A csirázó búza cukor-készletének vizsgálata alapján sok tekintetben hasonló megállapításokat tehetünk, mint az aminosavaknál:

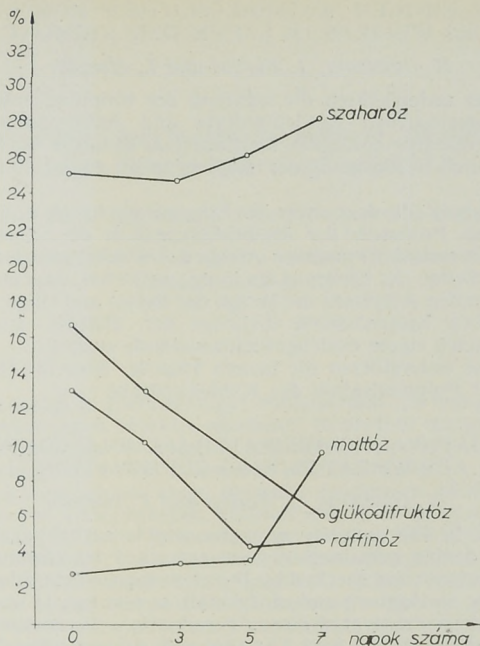
1. A csirázás során aktíválóó amilázok a folyamat első szakaszában növelik a búza mono- és oligoszaharid tartalmát, amely azonban az egyensúlyi helyzet felé tart és az összes cukortartalom, az általunk vizsgált időtartamon belül, azután már szignifikánsan nem változik.

2. Az egyes cukorféleségek arányának alakulása nem mutat egységes képet. A maltóz jelentősen növekedik, ami érthető is, mert az amilázok maltóz-részeket hasítanak le a keményítő láncmolekuláiból. A szaharóz, a vizsgált időszakban, még megtartja domináló jellegét, aránya gyakorlatilag nem változik. A glükodifruktóz erőteljesen csökkenése alátámasztani látszik azt az újabb keletű elgondolást, hogy a glükofruktozának a gabonában a szénhidrát polimerizáció közbeni termékei.



- 1 raffinóz
- 2 glükodifruktóz
- 3 maltóz
- 4 szaharóz
- 5 glükóz + fruktóz

5. ábra



6. ábra

Befejezésül szeretnénk hangsúlyozni, hogy a búza csírázási mechanizmusának vizsgálata a kezdet-kezdetén tart. Sok ismétlésre és több komponens további vizsgálatára van még szükség ahhoz, hogy nyugodt lelkiismerettel tehesünk alapvető növényélettani és biokémiai megállapításokat.

I R O D A L O M

- (1) Hagberg, S.: *Cer. Chem.* 37, 218, 1960.
- (2) Schneeweiss, R. – Hermes, H.: Die Bestimmung des Auswuchsgrades mit Hilfe der Fallzahlmethode nach Hagberg. *IGV-Mitteilungen*, 7. 65–67. 1965.
- (3) Perten, H.: *Brot u. Gebäck*, 78, 181, 1964.
- (4) Linko, P.: *Cer. Chem.* 38, 187, 1961.
- (5) Linko, P.: Suomen Kemistilehti. B33. 114, 1960.
- (6) Lászlóty, R. et al.: A búzafehérje-kémia néhány újabb eredménye. BME. Tud. Ülésszak előadásai. 2. 234, 1967.
- (7) Gasztonyi, K.: Hazai lisztek precukortartalmának felmérése *ÉVIKE*, 75 103, 1969.

PRÜFUNG EINIGER WASSERLÖSLICHEN KOMONENTEN DES WEIZENS IM LAUFE DER KEIMUNG

K. Gasztonyi, J. Farkas und L. Horváth

Die Verfasser untersuchten die während der Keimung erfolgten Veränderungen der wasserlöslichen Kohlenhydrate und Aminosäuren des Weizens vermittels der chromatographischen Methode. Das Resultat der Keimung wurde photometrisch durch Bestimmung der Hagberg'schen Fall-Zahl und der Maltose Zahl kontrolliert.

Es wurde festgestellt, dass unter der Einwirkung der im Laufe der Keimung sich aktivierenden Proteasen der Aminosäuregehalt der Samen während der ersten 72 Stunden zunimmt, nachher infolge des Wachstums und Aminosäurenverbrauches von Seiten des Embryos abnimmt; weiterhin, dass unter Einwirkung der sich aktivierenden Amylasen die Menge der Mono- und Oligo - saccharide - innerhalb derselben hauptsächlich diejenige der Maltose - anfangs ebenfalls ansteigt und hernach einem Gleichgewichtszustande zustrebt.

Die Verfasser unterstützen die neuere Theorie über die Rolle der Glycofructosane in der Polymerisation der Kohlenhydrate.

INVESTIGATION OF SOME WATER-SOLUBLE COMPONENTS OF WHEAT DURING GERMINATION

K. Gasztonyi, J. Farkas and L. Horváth

Alterations in the quantity of water-soluble carbohydrates and aminoacids of wheat during germination were examined by chromatography. The effects of germination were checked by the photometric determination of the fall number according to Hagberg and of the maltose number. It was found that on the effect of proteases activated during germination, the amount of aminoacids of the seeds increases in the first 72 hours and subsequently decreases due to the growth and to the aminoacid consumption of the embryo; and further that on the effect of activated amylases initially also the amount of mono- and oligosaccharides (and within this group mainly that of maltose) increases then later tends towards an equilibrium state. The experimental evidences support the recent suggestion concerning the role of glucofructosans in the polymerization of carbohydrates.

L'EXAMENS DE QUELQUES COMPOSÉS HYDROSOLUBLES DU FROMENT AU COURS DE LA GERMINATION

K. Gasztonyi, J. Farkas et L. Horváth

Les auteurs ont étudié les variations des carbohydrates et acides aminés hydrosolubles au cours de la germination par une méthode chromatographique. On a contrôlé le résultat de la germination par la méthode Hagberg et par le dosage photométrique de la valeur de la maltose.

On a constaté que la quantité des aminoacides du grain augmente pendant les premières 72 heures sous l'action des protéases s'activant lors de la germination, pour diminuer ensuite en conséquence de la croissance de l'embryon et sa consommation d'aminoacides; on a établi en outre que, sous l'influence des amylases qui s'activisent, la quantité des mono- et oligosaccharides et surtout celle de la maltose augmente également au commencement pour atteindre une position d'équilibre.

On soutient la théorie nouvelle relative au rôle des glucofructosanes dans la polymérisation des carbohydrates.