

DOKTORI ÉRTEKEZÉS

Molnár Erzsébet

Szeged

1967.



Diss. B 382



Kísérleteimet a Sütőipari Kutatóintézetben végeztem. Köszönetet mondok Dr. Gasztonyi Kálmánnak, az Intézet igazgatójának, hogy lehetővé tette számomra a téma kidolgozását.

T A R T A L O M

I. Bevezető áttekintés

1. A búzaliszt fehérjéi
2. Az aszkorbinsav általános jellemzése
3. Az aszkorbinsav tésztajavító hatásával foglalkozó irodalom áttekintése

II. Kísérleti rész

1. Vizsgálati anyag
2. Alkalmazott vizsgálati módszerek
 - a/ Lisztkivonat készítése
 - b/ Az aszkorbinsavtartalom meghatározása
 - c/ Összes fehérje meghatározása
 - d/ Fehérjekomponensek szétválasztása
 - e/ Fehérjék aminosav összetételének meghatározása
 - f/ SH, SS csoportok kimutatása
 - g/ A tészta fizikai tulajdonságainak vizsgálata
 - h/ A kivonat viszkozitásának meghatározása
3. Kísérleti eredmények
 - a/ Aszkorbinsavtartalom változása a szuszpenzióban
 - b/ A tészta fizikai tulajdonságainak változása
 - c/ A kivonatok összfehérjetartalma
 - d/ A kivonatok aminosavösszetétele
 - e/ A kivonatokban kimutatható szulfhidril csoportok és diszulfid kötések

f/ A kivonatból elválasztott fehérjefrakciók

g/ A kivonat viszkozitása

4. Következtetések

III. Összefoglalás

IV. Irodalom

BUZAŐRLEMÉNYEK ÖSSZETEVŐINEK VÁLTOZÁSA
ASZKORBINSAV HATÁSÁRA

I. Bevezető áttekintés

A sütőipar gépesítésével és automatizálásával egyre nagyobb jelentősége van az egyenletes minőségű nyersanyag feldolgozásának.

A mezőgazdaság és a malomipar ma még nem tudja kielégíteni az ilyen irányú igényeket, ezért a minőségi eltérések kiegyenlítésére világszerte széles körben alkalmazzák a különböző lisztjavító vegyszereket. Közülük elsőnek a fehérjék tulajdonságait befolyásoló kemikáliák terjedtek el. A lisztjavító vegyszerről szóló első beszámoló az 1816-17-es évekből származik. Von BIBRA /5/ leírása szerint a sikértulajdonságok javítására a múlt század elején Franciaországban rézszulfátot adagoltak. Azóta számos szerves és szervetlen vegyületet javasoltak az őrlemények minőségének befolyásolására. Az alkalmazott vegyszerek általános jellemzője, hogy oxidáló hatásuk. Történelmi sorrendben ezek közül elsőnek a perszulfátokat, perborátokat, perfoszfátokat lehet megemlíteni, melyeket lisztjavító célra CHITTY és JAGO angol kutatók 1911-ben szabadalmaztattak.

A perszulfátokkal közel egyidőben fedezték fel a bromát és jodát kedvező hatását, amelyeket KOHMAN és munkatársai /27, 28/ 1914-ben szabadalmaztattak.

A bromát alkalmazása az egész világon széles körben elterjedt, használata a Szovjetunióban és az Egyesült Államokban ma is engedélyezett. Európában a legtöbb államban erősen korlátozták vagy teljesen betiltották az adagolását.

A káliumbromát hatásmechanizmusának tanulmányozása közben fedezte fel JÜRGENSEN az aszkorbinsav lisztjavító hatását, melyet 1935-ben szabadalmaztatott /6/.

A lisztjavító vegyszerek közül hazánkban csak az aszkorbinsav engedélyezett. Kísérleteim során azt vizsgáltam, hogy az aszkorbinsav adagolás hatására a búzaőrlemény összetevői milyen kémiai változáson mennek keresztül a búzalisztből készült bonyolult kolloid rendszerben, a tésztában.

1. A búzaliszt fehérjéi

Az aszkorbinsav hatására a kutatók általános megállapítása szerint a tészta fizikai, reológiai tulajdonságai változnak jelentősen. Ezeket pedig a lisztben lévő fehérjék tulajdonságai determinálják elsősorban.

Az OSBORNE-tól származó klasszikus osztályozás szerint a búza fehérjéit oldékonyságuk alapján a következő csoportokba lehet sorolni /26, 32/:

albumin

globulin

gliadin

glutenin

proteoz

A búzaliszt albuminja vízben jól oldódik. Az újabb elektroforetikus vizsgálatok szerint 11 frakcióból áll. A legismerebb albumin a leukozin, amelynek izoelektromos pontja 4,5-4,6 pH körül van. Hőmérséklet hatására 52 C°-on koagulál.

A híg sóoldatban oldódó globulinok közül a búzalisztben edesztin található. Ez a fehérjeféleség 100 C°-on is csak részben koagulál.

A lisztben lévő albumin és globulin együttes mennyisége is kevés, mindössze 1-1,5 %, ugyanakkor

éppen jó oldékonyságukkal együttjáró nagy hidrofilitásuk miatt jelentősen befolyásolják a tészta tulajdonságait.

A fehérjék legnagyobb része a prolaminek csoportjába tartozó gliadinból és gluteninből áll. Az összes fehérjének kb. 40-50 %-át kitevő gliadin vízben kismértékben, hígított metil-, etil- és propilalkoholban jól oldódik. Izoelektromos pontja 6,4-7,1 pH között van. Vízoldhatatlan része vízben jól duzzad, közben ragacsos tömeggé alakul. Duzzadása korlátozott. Hő hatására 60-70 °C fölé denaturálódik és ezzel együtt elveszti duzzadóképeségét.

A glutelinek csoportjába tartozó glutenin mennyisége kb. megegyezik a gliadinéval. Ez a fehérje vízben és alkoholban, valamint neutrális sóoldatokban nem oldódik. Híg savakban, gyenge lúgokban sóképzéssel oldódik. Izoelektromos pontja 6-8 pH között van. A búzalisztben a glutenin a gliadinnal együtt alkotja a sikeért.

A klasszikus osztályozás szerint szétválasztott fehérjék aminosav összetételét a következő táblázat tartalmazza.

Bánkúti 1201-es búza fehérjéinek aminosav összetétele
százalékban

/Lindner, Krámer, Szőke mérései szerint/

Megnevezés	Teljes búza- fehérje	Albu- min	Glo- bulin	Glute- lin	Pro- lamin
Lizin	2,8	0,9	3,5	2,2	0,4
Arginin	5,5	1,9	4,4	3,3	4,0
Alanin	2,8	4,9	5,5	1,4	2,0
Prolin	9,0	5,6	6,6	7,5	15,0
Tirozin	4,0	4,1	4,9	3,0	2,7
Metionin	1,8	2,1	2,5	0,5	1,2
Valin	6,2	4,4	6,6	4,0	4,8
Fenilalanin	4,2	4,4	4,9	3,0	3,8
Leucinok	16,3	9,5	11,5	7,5	13,0
Aszparaginsav	2,7	8,5	9,5	1,7	1,7
Glutaminsav	28,0	14,0	13,5	17,0	35,0
Szerin	3,9	3,5	4,9	2,4	5,8
Glikokoll	3,5	7,6	7,0	4,5	2,2
Treonin	1,5	4,1	4,3	1,2	2,0
Cisztin	2,9	-	-	-	-

Az újabb fehérje elválasztási módszerekkel megállapították, hogy a klasszikus osztályozás szerinti fehérjék nem egységesek, továbbá frakcionált oldással, pl. fokozatosan növekvő koncentrációjú hig szerves savakkal a búzalisztból vagy sikérből több frakció állítható elő /10, 35, 8, 42/.

Az egyes frakciók fizikai, kémiai tulajdonságai között jelentős eltérés található, ezek egyike sem azonos a klasszikus osztályozás szerinti fehérjékkel.

A búzalisztból készült tészta jellegzetes szerkezetét a hidrogéllé duzzadt sikérképző fehérjék hozzák létre. GROSSKREUTZ szerint a siker 100-1000 $\text{\AA}^0$ vastagságú kötegekből áll, amelyen belül 70 $\text{\AA}^0$ átmérőjű, összezsavarodott polipeptid láncból álló ún. "protein levélkéket" tartalmaz, ezek hidrofób oldala befelé, hidrofil vége pedig kifelé irányul. A levélkéket víz veszi körül és hidrogénkötéssel kapcsolódnak egymáshoz. A váz kialakításában résztvevő fehérjéknek mintegy 2-5 %-a foszfolipid. A foszfolipid molekulák foszforsav csoportjai párokba rendeződnek és hegyükkel kifelé irányulnak, amelyhez sókötéssel két vagy több proteinsor kapcsolódik a bázikus aminos csoporton keresztül.

A proteinláncok hidrofób vége belefűrődik a

lipid levélkébe, a hidrofil vég pedig kifelé irányul és újabb protein molekulákat képes megkötni, vagy vizet képes adszorbeálni.

A jellegzetes sikérszerkezet kialakításában az albuminoknak és globulinoknak is fontos szerepük van, ugyanis ha a lisztből ezeket az alkotórészeket előzetesen eltávolítjuk, a kinyerhető siker egészen másként viselkedik /26/.

A búzafehérje tulajdonságainak felderítése érdekében az utóbbi években egyre többet foglalkoztak a búzafehérjék kén tartalmú aminosavainak, a diszulfid kötéseknek és a szulfhidril csoportoknak a vizsgálatával /6, 52, 55, 37, 38, 41/.

Számos kutató szerint a búzatészta reológiai tulajdonságainak kialakításában a szulfhidril és diszulfid csoportoknak, ezek egymáshoz való arányának jelentős szerepe van.

A diszulfid kötések kizárólagos szerepével szemben JANKIEWICZ /23/ hangsúlyozza a búzafehérjében lévő hidrogén kötések jelentőségét a tészta mechanikai sajátságainak kialakításában.

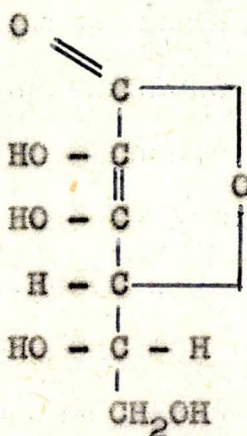
A siker bonyolult szerkezetéből következik az a tény, amelyet MEREDITH és munkatársai /40/ kísérletileg is igazoltak, hogy a frakcionált elválasztás során a fizikai, kémiai behatás következtében

a fehérjék tulajdonságai jelentősen megváltoznak. Ugyancsak a bonyolult szerkezet okozza, hogy a síkér tulajdonságait már kis mennyiségben adagolt különféle kemikáliák is számottevően befolyásolják. DIMLER /13/ kísérletei rámutatnak arra, hogy pl. oxidálószeres hatása attól függően más és más lehet, hogy az oxidációt híg vagy tömény oldatban hajtjuk végre. Híg oldatban intramolekuláris, tömény oldatban pedig intermolekuláris átalakulás következik be.

A gabonafehérjék bonyolult összetétele és szerkezete miatt nagyon nehéz az egyes kémiai hatások, átalakulások tanulmányozása.

2. Az aszkorbinsav általános jellemzése

Az aszkorbinsavat $C_6H_8O_6$ / Szent-Györgyi 1928-ban mellékvese kéregéből /58/, majd 1930-ban paprikából izolálta. Az l-aszkorbinsav vízben jól oldódó, savanykás ízű, fehér kristályos anyag. Molekulásúlya 176,12, olvadáspontja 188-192 °C. A vegyület szerkezeti felépítését tekintve lakton, a molekulában megtalálható egy lakton gyűrűbe zárt karboxil-csoport, két enolos hidroxil és egy C=C. Ezenkívül tartalmaz még két alkoholos jellegű hidroxilcsoportot is. Szerkezeti képlete:

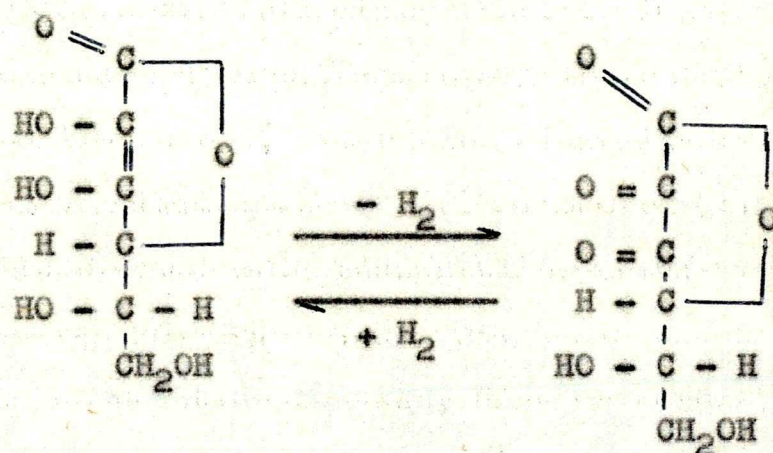


l-aszkorbinsav

Az enolos hidroxilcsoportok hidrogénje diszociálabilis, emiatt a vegyület gyenge savként vi-

selkedik. Disszociációs állandója $K_s = 6,2 \cdot 10^{-5}$
 $/P_s = 4,21/$.

Az aszkorbinsav jellemző tulajdonsága, hogy a két enolos hidroxilcsoport reverzibilisen dehidrogéneződhet, ezáltal a molekula dehidroaszkorbinsavvá oxidálódik /dehidrogéneződik/ a következő reakcióegyenlet szerint:



l-aszkorbinsav

dehidroaszkorbinsav

A folyamat standard redox potenciálja normál hidrogénelektrodra vonatkoztatva +0,36 Volt. Erélyes körülmények között irreverzibilisen oxidálódik, végül oxálsavra és l-treonsavra bomlik. A Fehling-oldatot, hig káliumpermanganát oldatot, metilénkéket erélyesen redukálja. A redukáló hatás függ a pH-tól. Savas közegből kiindulva, egészen

pH = kb. 4-ig a redukciós erő nő, pH 4-nél a redoxpotenciál a pH-tól függetlenül állandóvá válik, értéke +0,22 Volt. Redukáló tulajdonsága felhasználható kvalitatív és kvantitatív meghatározására.

Az erős redukáló hatás miatt a vegyület csak savanyú oldatban állandó, pH 4-nél nagyobb pH-jú közegben oxigén jelenlétében nem tartható el. Bomlását katalizálják a fény, fémnyomok /Ni, Fe, Cu, stb./ és a riboflavin. Hőre érzékeny, melegítés hatására levegő jelenlétében elbomlik, oxigén kizárásával 140 C⁰-ig hevithető.

Az aszkorbinsav erős redukálóképessége lehetővé teszi számos oxidáló anyag kvantitatív meghatározását reduktometriás módszerrel.

Az aszkorbinsavnak fontos szerepe van az élő szervezetben. Hiánya embernél a skorbut nevű megbetegedést okozza. Még pontosan nem ismeretes, hogy az emberi szervezetben milyen biokémiai folyamatokhoz szükséges. A feltételezések szerint a szervezet redox folyamataiban vesz részt. Fontos szerepe van a csontrendszer regenerálásában, mukopoliszaharidok anyagcseréjében, szükséges továbbá a p-oxifenilpiroszölösavnak homogentizinsavvá való átalakításában /57, 31/.

3. Az aszkorbinsav tésztajavító hatásával foglalkozó irodalom áttekintése

JÖRGENSEN felfedezése után széleskörű kutatómunka indult meg az aszkorbinsav lisztjavító hatásának értelmezésére. A kutatások során a javítóhatás mértékét, a javítóhatás optimális körülményeit és a hatásmechanizmust tanulmányozták.

A kutatók egyértelmű megállapítása szerint az aszkorbinsav hatására javulnak a tészta fizikai tulajdonságai és emiatt a késztermék térfogata jelentősen megnő.

A tészta reológiai tulajdonságainak változását farinográffal, Chopin-féle alveográffal, extensográffal, laborográffal vizsgálták.

AUERMAN, PROSKURIAKOV és ZAGLADIN /47/ mérései szerint alveográfus vizsgálattal az 1 g tészta vékony hártává nyújtásához szükséges fajlagos munka /"W"/ $158,4 \times 10^3$ erg értékről $204,9 \times 10^3$ erg-re emelkedik. LÁSZTITY /33/ eredményei arról tájékoztatnak, hogy laborográfus vizsgálat során az aszkorbinsavval készült tészta szerkezeti relaxációja a kontrollhoz viszonyítva csökken. MINGER /39/ és CERUTTI /9/ kísérletei szerint aszkorbinsav hatására a késztermék térfogata 10-20 %-kal nő.

Az előzőekhez hasonló megfigyeléseket tesz SCHNELLER, MOLNÁR /54/ és MOLNÁR /43, 44, 45/.

A fenti hatásokon kívül DRAPRON /15/ arról számol be, hogy az aszkorbinsav csökkenti a tésztában az alfa amiláz tevékenységét. Más leírások szerint /60/ reverzibilis módon gátolja a béta-amiláz működését.

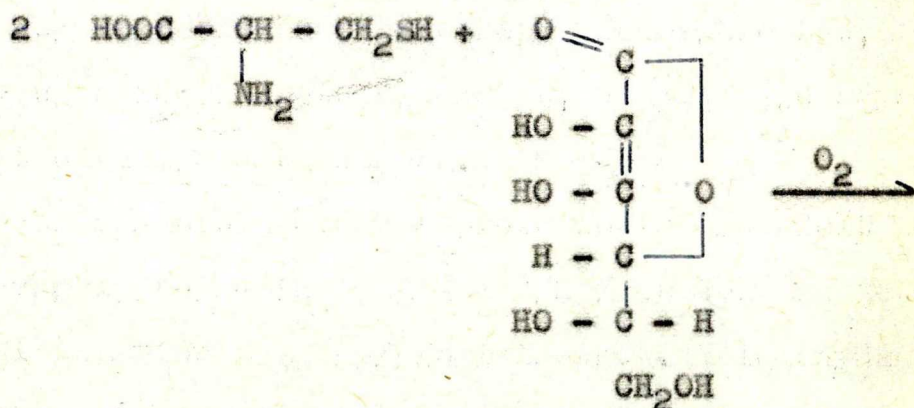
Az aszkorbinsav kedvező hatásának felismerése után egyre jobban a hatásmechanizmus magyarázatára törekedtek. A kérdéssel foglalkozó kutatók közös megállapítása, hogy az aszkorbinsav a redox állapot befolyásolásával fejti ki hatását. Eltérőek azonban a vélemények tekintetben, hogy a redox állapottal mely alkotórész tulajdonsága változik meg. A kialakult elméleteket a következő módon lehet csoportosítani:

- a/ a proteázok tevékenységét gátolja,
- b/ közvetlenül a sikképző fehérjére hat,
- c/ a redukáló tulajdonságú, nem fehérje anyagokat oxidálja a tésztában.

Az aszkorbinsavnak a proteázokra gyakorolt hatásával 1935-38-ban JÖRGENSEN /25/ és tőle függetlenül BALLS és HALE /3/ foglalkozott. Véleményük szerint a tésztában az aszkorbinsav átalakul dehidro formává és közben a proteázokat inaktíválja. Má-

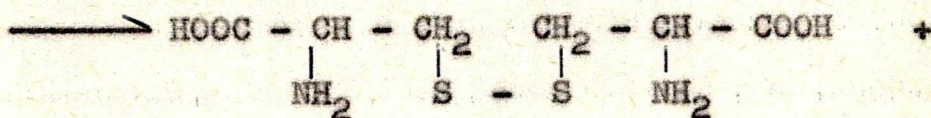
sik elgondolásuk szerint a proteázok a lisztben latens formában vannak jelen és aktiválásukhoz redukált glutationra vagy más redukáló anyagra van szükség. A proteázok aktiválásában a glutation SH csoportjának van fontos szerepe. A feltételezések szerint oxidáló anyagok hatására a glutation diszulfid alakká oxidálódik /ún. -S-S-glutation/. A glutation oxidált formája a proteázokat nem képes aktiválni, ezért elmarad a tésztában a sikér lebomlása, a sikér rugalmasabb marad, nagyobb lesz a gázvisszatartó képessége.

A glutation glutaminsavból, glicinből és ciszteinből épül fel. Az -SH csoport hordozója a cisztein. A kutatók elképzelése szerint a cisztein és az aszkorbinsav között a következő módon megy végbe a reakció:

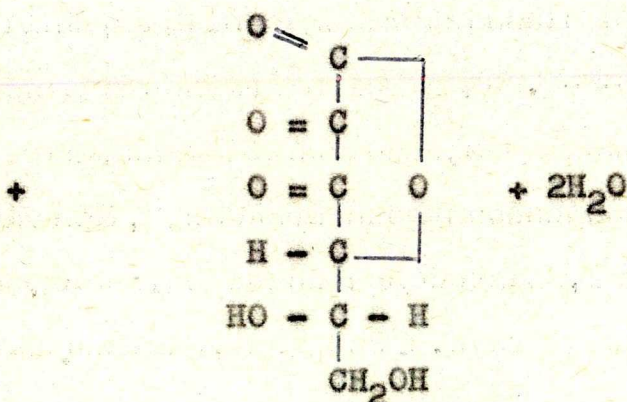


cisztein

aszkorbinsav

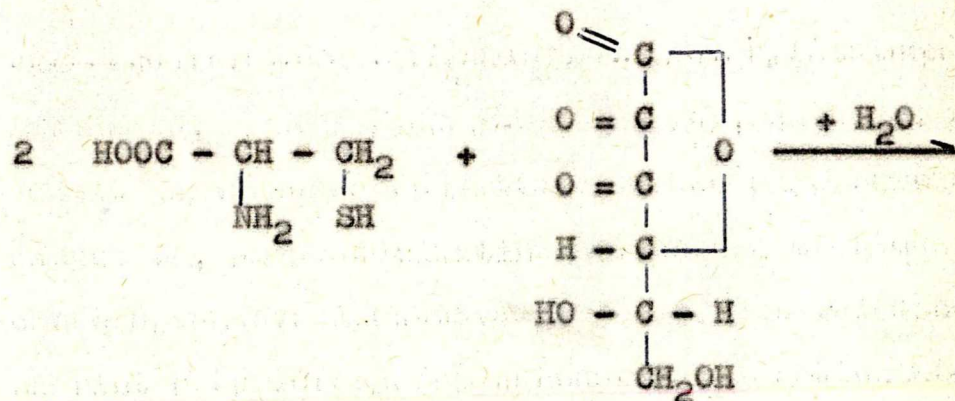


cisztin



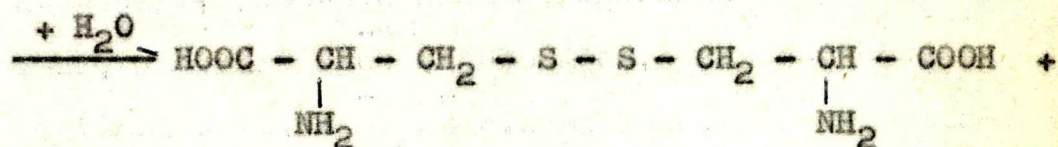
dehidroaszkorbinsav

JÖRGENSEN /25/ és számos más szerző megfigyélése szerint a lisztjavítóhatás dehidroaszkorbinsavval is bekövetkezik. A reakció ebben az esetben a következő módon értelmezhető:

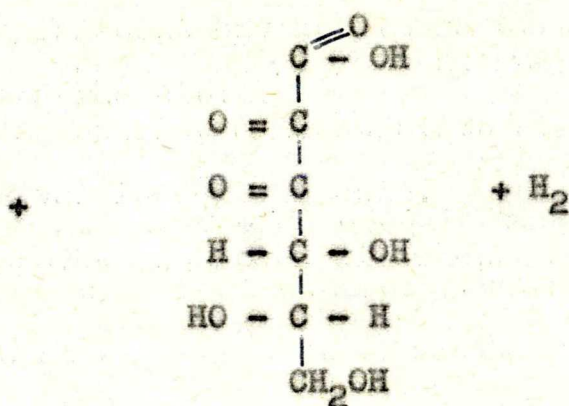


cisztein

dehidroaszkorbinsav

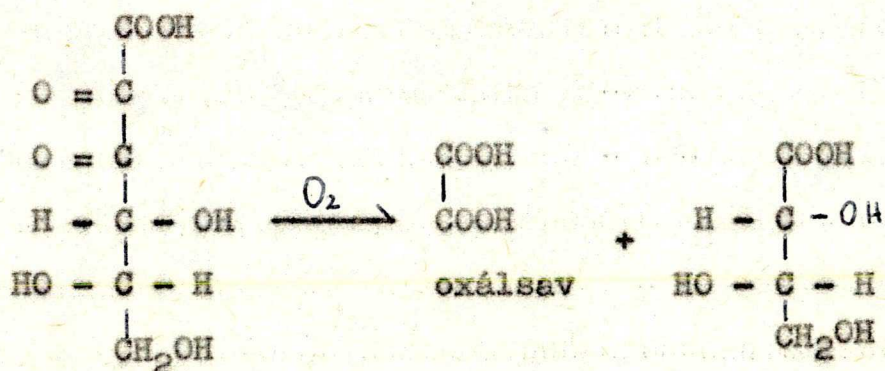


cisztin



diketo-gulonsav

A diketo-gulonsav tovább bomlik



gulonsav

l-treonsav

Az oxidáló lisztjavítószernak a proteázok tevékenységére gyakorolt hatását ZIEGLER is megerősítette.

Más szerzők, READ és HAAS, /48, 49, 50/ /1937-38/ BUNGENBERG de JONG nem fogadták el a proteáztevékenységet gátló elméletet. Véleményük szerint az oxidáló lisztjavítószerek közvetlenül a fehérjékre hatnak. A közvetlen fehérje oxidáció elméletének fő képviselője SULLIVAN /1940/ volt. Több más szerzővel egybehangzóan megfigyelte, hogy a lisztjavítóhatást a siker közvetlen oxidációja kísérte. Az oxidációs folyamat az -SH csoportoknak -S-S-csoportokká való átalakulásából áll. Az oxidáció a ciszteinnél leírt reakcióval analóg módon

megy végbe.

LÁSZTITY szerint /34/ aszkorbinsav hatására az SH csoportok mennyiségének csökkenése mindössze 40 %. Tekintettel arra, hogy a szulfhidril csoportok a téstában eredetileg is kis mennyiségben találhatók /mikroekvivalens/g nagyságrendben/ ezért nem helytálló az, hogy a lisztjavító hatás kizárólag -S-S-kötések létrejöttére vezethető vissza, a diszulfid kötésekkel szemben a hidrogénkötések szerepét és jelentőségét hangsúlyozza a téstá fizikai tulajdonságainak javításában.

Figyelembevétel, hogy az enzimek, a proteázokat aktiváló glutation és a sikért alkotó aminosavak egyaránt tartalmaznak -SH csoportokat és ezek bármelyike oxidálódhat, nem dönthető el teljes biztonsággal, hogy melyik elmélet helyes.

A kutatók egy tábora szerint az oxidáció nem korlátozható a liszt egy alkotórészére, hanem komplex oxidációs hatással kell számolni. Az elmélet fő képviselői FREILICH és FREY /18, 19, 20, 21/ véleményük szerint egyaránt lejátszódhat a fehérjebontó enzimek inaktiválása és a redukáló anyagok oxidációja is.

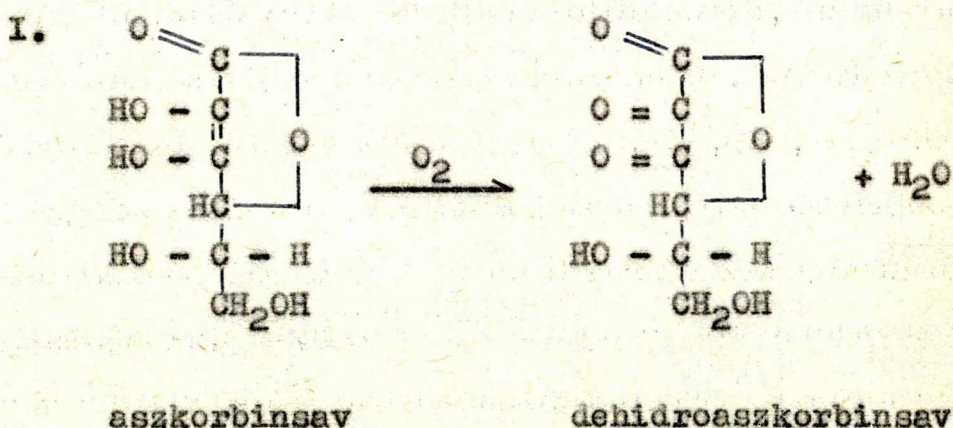
A kialakult elméleteket összefoglalva megállapítható, hogy még nem találtak egységes magyaráza-

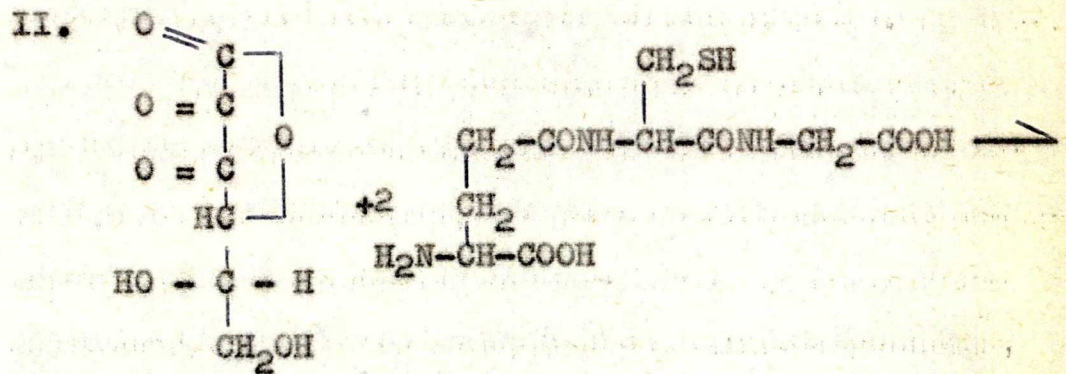
tot az aszkorbinsav hatásának értelmezésére. Az elméletek közös vonása azonban, hogy az egyébként erős redukálószerként ismert aszkorbinsav oxidációs hatásával magyarázzák az aszkorbinsavval készült tészta tulajdonságainak javulását.

Az aszkorbinsav hatása csak úgy értelmezhető, ha az aszkorbinsav oxidálódik. Az előzetes oxidációt több szerző tanulmányozta.

MALTA /36/ szerint az l-aszkorbinsav átalakulása a tésztában egymást követő két lépcsőben történik.

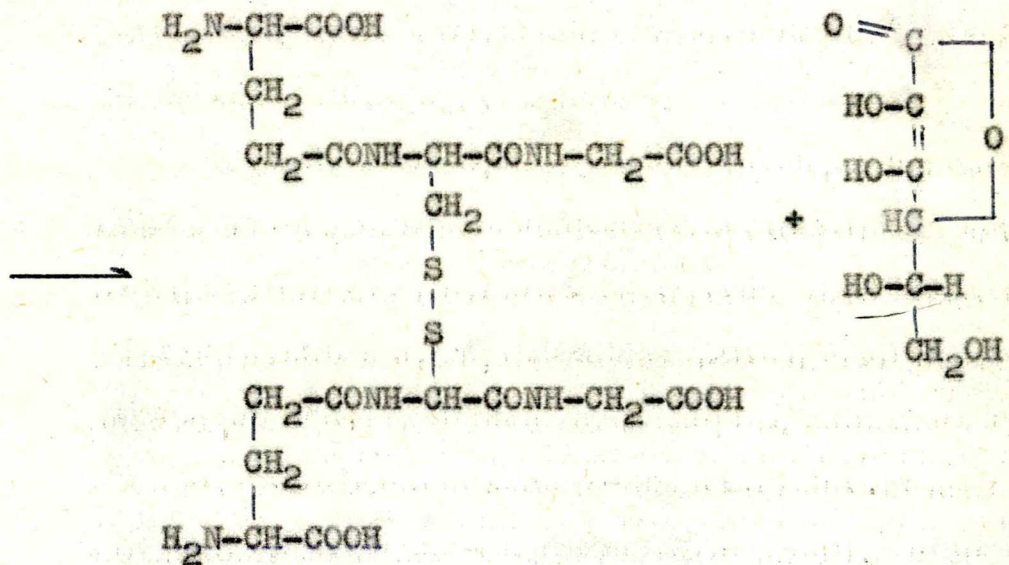
Az első lépcsőben az aszkorbinsav a jelenlévő oxigén, vagy hidrogénakceptor jelenlétében dehidroaszkorbinsavvá alakul. A második lépcsőben a dehidroaszkorbinsav a glutation szulfhidril csoportjával reagál, miközben glutation diszulfid képződik és vissza alakul az l-aszkorbinsav.





dehidroaszkorbinsav

glutation



glutation-diszulfid

aszkorbinsav

Az első reakció lejátszódásához katalizátorokra van szükség. Ezek lehetnek:

hőre nem érzékeny katalizátorok, mint pl. szerves nehézfém komplexek és

enzimes tulajdonságú hőérzékeny katalizátorok.

Egyenlőre még nem tisztázott, hogy melyik az a katalizátor, enzimes, vagy nem enzimes természetű, amely az l-aszkorbinsavnak a téstába történő primér oxidációjánál döntő, melyek a parallel folyamatok, illetve kombinációk, amelyek az átalakulást eredményezik.

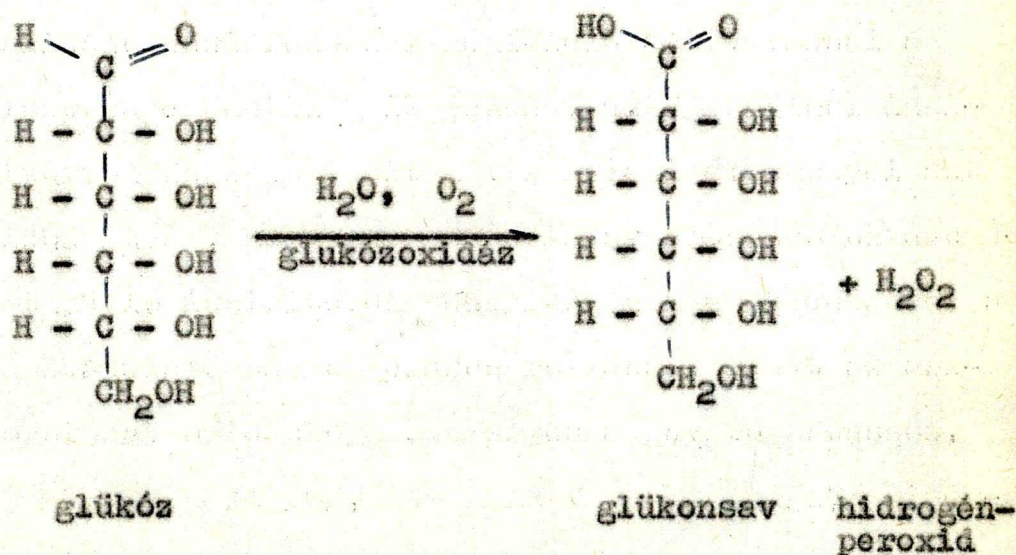
PROSKURIAKOV és PAULINOVA /46/ szovjet szerzők megállapítása szerint az oxidáció az aszkorbinsav oxidázhoz hasonló enzimrendszer hatására megy végbe. Hasonló felfedezésre jutott már korábban Szent-Györgyi /59/ is, aki megállapította még 1931-ben, hogy az aszkorbinsavat az aszkorbinsav oxidáz oxidálja.

PROSKURIAKOV és AUERMAN /47/ modellkísérletei szerint az aszkorbinsav oxidációjához szükséges katalizáló enzimrendszer megfelelő aktivitással a lisztben eredetileg is jelen van. Ugyanakkor inhibitorral készült tésták vizsgálati eredményei azt bizonyítják, hogy az aszkorbinsav előzetes oxidációját gátló inhibitorok mennyiségének növekedésével a téstatulajdonságok erősen romlanak, tehát az aszkorbinsav oxidációja szükséges a javító hatáshoz.

TAUBER /1936/, ENGELHARDT és BUKIN /17/ kísérleteik során felismerték, hogy az aszkorbinsav hid-

rogénperoxid hatására is oxidálódhat, a hidrogénperoxid pedig a növényekben polifenolokból származhat. BOKUCIAV, SCUBERT és POPOV /7/ megfigyelték, hogy az aszkorbinsav polifenoláz enzim katalizáló hatására is dehidrogéneződhet különböző polifenolok jelenlétében. KEILIN és MANN /1955/ feltételezik, hogy az oxidációt a citochróm enzimrendszer is katalizálhatja a citochróm C-n keresztül. MALTHA /36/ 1955-ben megfigyelte, hogy az aszkorbinsav oxidációja indirekt módon is végbemehet glükózoxidáz enzim hatására.

A lisztekben mindig van /legtöbbször csak nyomokban/ glükóz, amelyből víz és oxigén jelenlétében a glükózoxidáz hatására glukonsav és hidrogénperoxid képződik a következő reakció egyenlet szerint.



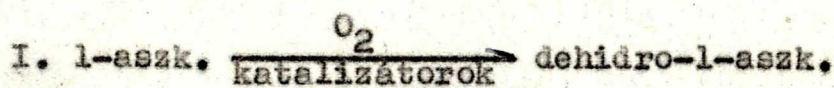
A H_2O_2 gyorsítja az aszkorbinsav oxidációját.

Mind a szovjet kutatócsoport, mind pedig MALTHA kísérleti eredményei szerint az adagolt enzim, az aszkorbinsavoxidáz és glükózoxidáz egyaránt önmagában is javította kismértékben a tésztatulajdonságokat. Míg azonban a glükózoxidáz fokozta az aszkorbinsav hatását, addig az aszkorbinsavoxidáz esetében ez nem volt tapasztalható.

TSEN /62/ a levegő oxigénjének, valamint különböző redukáló anyagoknak, káliumjodátnak és káliumbromátnak a hatását vizsgálta. Kísérleteiből megállapítja, hogy nitrogén atmoszférában a dehidroaszkorbinsav hatása lényegesen nagyobb, mint az aszkorbinsavé, az aszkorbinsav csak kismértékben javítja a tésztatulajdonságokat, levegő jelenlétében mind az aszkorbinsav, mind pedig a dehidroaszkorbinsav hatása fokozódik, a kettőé közel azonos. Kismennyiségű káliumjodát, vagy káliumbromát az aszkorbinsav hatását kedvezően befolyásolja. Kísérleteivel egyben azt is igazolja, hogy az izoaszkorbinsav semmiféle hatást nem fejt ki.

Az aszkorbinsavból a különböző kutatók /47, 54, 44, 45, 28/ egyértelmű megállapítása szerint lisztre számított 0,001-0,01 % közötti mennyiséget célszerű a tésztakészítéshez felhasználni.

A kutatások központi problémája volt az aszkorbinsav bomlásának, átalakulásának sebessége a tésztában. Általános megállapítás, hogy ez a folyamat gyorsan végbemegy. ZAGLADIN, PROSKURIAKOV és AUERMAN mérései szerint az aszkorbinsav 20 perc alatt elbomlik. Ugyanakkor LÁSZTITY /34/ arról számol be, hogy a tésztapihentetési idő növelésével 0-3 óra között az aszkorbinsav hatása fokozódik. Feltételezése szerint, mivel az aszkorbinsav a tésztában gyorsan oxidálódik, a javítóhatás kifejtéséhez szükséges hosszabb időt valamelyik következő folyamat lassú reakciósebessége indokolja. Szerinte a dehidroaszkorbinsav hatására a búzafehérjék előbb valamilyen aktív közbenső vegyületet képeznek olymódon, hogy a fehérjeláncon aktív csoportok képződnek. Ezen aktív csoportok időben lassan lefolyó reakciója során alakulnak ki az új stabil keresztkötések. A reakcióvázlat szerint a következő:



Az irodalmi adatokból megállapítható, hogy az aszkorbinsav lisztjavító hatásával foglalkozó kutatók elsősorban a javítóhatás eredményét, a hatást befolyásoló tényezőket vizsgálták. Kevés adat található arra vonatkozóan, hogy milyen kémiai változások mennek végbe a kis mennyiségben adagolt aszkorbinsav jelenlétében. Az ilyen irányú kutatások is elsősorban és majdnem kizárólag a fehérjék SH és SS csoportjainak mennyiségével, arányával foglalkoznak.

Kísérleteim során az aszkorbinsav hatására bekövetkező kémiai jellegű változásokat tanulmányoztam.

II. Kísérleti rész

Kísérleteimet a következő szempontok figyelembevételével állítottam össze:

a/ A hatást olyan anyagon kell tanulmányozni, amelyen a lisztjavítószerrel a változások elég jellemzőek.

b/ Az aszkorbinsav hatására a fehérjék tulajdonságai változnak, tehát ezeket kell tanulmányozni.

c/ A reakció enyhén savanyú /tészta pH: 4,5-5,0/ vizes közegben játszódik le, ezért feltehetően a nagyobb hidrofilitással rendelkező, oldható fehérje komponensek változása elsődleges.

d/ A fehérjemolekulák kemikáliákkal, valamint erőteljes mechanikai behatásra mutatott érzékenységet figyelembevéve kiméletes módon kell az egyes komponenseket szétválasztani, illetve azok tulajdonságait kiméletes körülmények között kell tanulmányozni.

e/ A fehérjekomponensek tulajdonságainak változása a koncentrációnak is függvénye, emiatt a természetes /tészta/ konzisztenciát jól megközelítő körülmények között célszerű az átalakulást vizsgálni.

f/ Korábbi megfigyelések szerint /43/ a fel-

tárt keményítő adagolása a javítóhatást fokozza.

Ezen alapelveknek megfelelően a vizsgálatokat a következőkben ismertetett módon hajtottam végre.

1. Vizsgálati anyag

A kísérleteket BL 112-es jelzésű búzaliszt-
tel végeztem. Az őrlemény néhány fontos jellemző-
je:

nedvességtartalom 13,2 %

hamutartalom 1,09 %

fehérjeteralom 12,3 %

nedvessikértartalom 32,5 %

Farinográfus vizsgálatok eredményei:

vizfelvevőképeség 59,3 %

tésztakialakulási idő 3 perc

tésztastabilitás 2,5 perc

ellágyulás 80 FE

Az őrlemény a vizsgálati eredmények alapján
átlagos minőségűnek tekinthető.

2. Alkalmazott vizsgálati módszerek

a/ Liszt kivonat készítése

Liszt és víz 1:1 arányú keverékéből homogén szuszpenziót készítettem, 60 percen át 30 °C-os termosztátban állni hagytam, miközben 10 percenként átkevertem. A szuszpenziót 6000 ford/perc mellett 15 percen át centrifugáltam. A vizsgálatokhoz a centrifugálás után kapott folyadékfázist használtam fel.

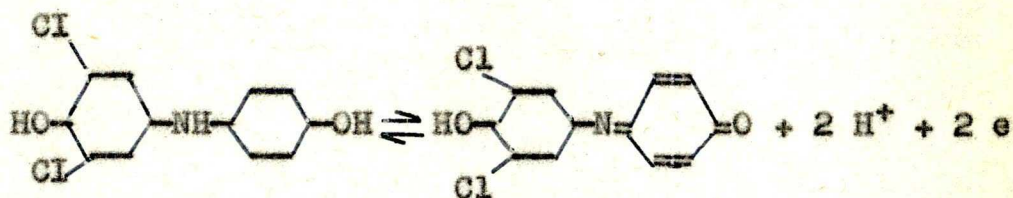
A kivonat készült adalékanyag nélkül, valamint lisztre számított 0,01 % aszkorbinsavval, 5 % elcsirizesített keményítővel és a kettő együttes felhasználásával. Az SH csoport és SS kötések meghatározásához a kivonatot kétszer desztillált vízzel készítettem.

b/ Az aszkorbinsavtartalom meghatározása

A reakcióelegy aszkorbinsavtartalmát a 2,6-diklorfenolindofenol redukcióján alapuló eljárással /1/ határoztam meg. A vizsgálatához a szuszpenzióból 6 %-os foszforsavval kétszeres térfogatra való hígítással törzsoldatot készítettem. A metafoszforsavval savanyított közegben az aszkorbinsav viszonylag stabil. Whatman 12-es papíron való szűrés után az aszkorbinsavat tartalmazó oldatból 5 ml-t üveg dugós

centrifugacsőbe mértem. Hozzáadtam 5 ml acetát puf-
fert /pH = 4/ és 2 ml diklorfenolindofenol oldatot
/25 mg 2,6 diklorfenolindofenol nátriumsója 200 ml
desztillált vízben feloldva/.

A 2,6 diklorfenolindofenol redox indikátor,
amely oxidáló közegben kék, redukáló közegben szín-
telen. A színváltozás oka az, hogy oxidáció hatásá-
ra kinoidális szerkezet alakul ki a következő mó-
don:



redukált forma

oxidált forma

Az adalék nélkül készült lisztszuszpenzióban a
festék oxidált formában van jelen, ezért színe kék.
A reakcióelegy aszkorbinsavtartalma esetén érvénye-
sül a redukáló hatás, az aszkorbinsav koncentráció-
jától függően csökken a kék szín intenzitása, va-
gyis a színintenzitás változás arányos a rendszer
aszkorbinsavtartalmával.

A vizsgálat érzékenyebbé tehető a festék xilol-
lal történő kioldásával. Ezért a reakcióelegy 6-10

másodpercig tartó rázása után adagoltam a kémcsőbe 10 ml oxidálóanyagtól mentes xilolt és erőteljesen összeráztam. Rövid állás után két fázis különült el, a felső xilolos fázis tartalmazta a festéket, amely a szerves oldószerben lila színnel oldódott. A xilolból küvettába mértem és 500 millimikron hullámhossznál mértem az oldat transzmisszióját keletnémet gyártmányú "Spekol" fotométerrel. A xilolban oldott festék több órán át stabil. A mennyiségi értékeléshez kalibrációs görbét készítettem. Ezzel az eljárással csak az aszkorbinsav mennyiségét mértem, a dehidroaszkorbinsavat nem.

c/ Összes fehérje meghatározása

A kivonat összes fehérjetartalmát Kjeldahl módszerrel vizsgáltam /1, 56/. Roncsolási keverékként Na_2SO_4 , CuSO_4 és porított szelén 100:1:1 arányú keverékét használtam. A desztillátumot bórsav oldatban fogtam fel, az ammónia mennyiségét 0,2 n HCl oldattal mértem bromkrezolzöldből és metilvörösből készült keverékindikátor jelenlétében. A nitrogén fehérjére történő átszámításánál a növényi fehérjék nagyobb nitrogéntartalmának megfelelően 5,7-el szoroztam.

d/ Fehérjekomponensek szétválasztása

A kivonatban lévő fehérjéket papir elektrofo-

rézissel választottam szét /51, 4, 12, 61/. A vizsgálatokat magyar gyártmányú OM-202 típusú, vertikális papirelektroforetikus készülékkel végeztem.

A szétválasztás körülményei:

Papir: Schleicher Schüll 2043, a papir mérete 56 x 56 cm, ill. 4 x 60 cm volt.

Puffer: 0,01 n tejsav pH : 2,9

citrát puffer pH : 4,6

piridin-ecetsav pH : 5,6

A felvitt anyagmennyiség 1 cm papírhosszra

0,05 ml kivonat

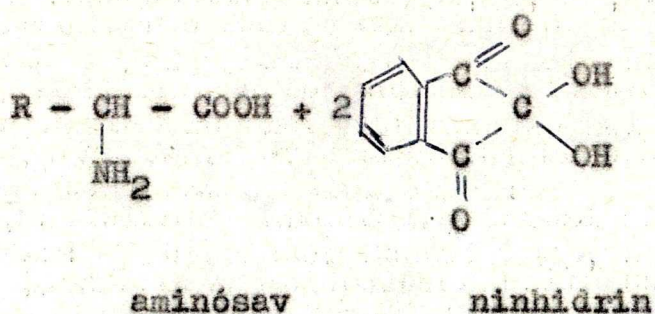
Feszültségesítés: 25 V/cm

Vizsgálati idő: 3-5 óra.

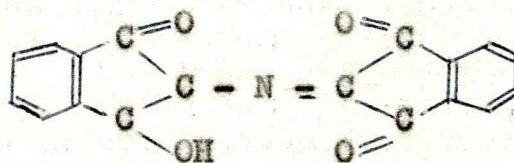
A papírt 0,25 %-os acetonos ninhidrinnel hivatam elő.

Előkísérleteim során a ninhidrinen kívül amidofekete 10 B és bromfenolkék festékekkel is kísérleteztem. A kivitelezés egyszerűsége, valamint a kisebb vegyszerigénye miatt választottam a ninhidrines festést, miután modellkísérlettel meggyőződtem arról, hogy a kapott eredmények elég jellemzőek.

A ninhidrin az alfa aminosavakkal, illetve a fehérjék szabad alfa aminocsoportjaival reagál:



Több közbenső lépésön keresztül H_2O kilépés és CO_2 felszabadulás mellett a következő, konjugált kötéseket tartalmazó vegyület képződik



Az egyes frakciók mennyiségét a papircsikkból való eluálás után kolorimetriás úton mértem.

e/ Fehérjék aminosav összetételének meghatározása

A fehérjéket 6N HCl-el hidrolizáltam 24 órán át /26/. A hidrolizátumot vakuumban csaknem szárazra pároltam. A maradékból törzsoldatot készítettem.

Aminosavak kimutatása: A hidrolízis során kapott aminosavakat kétféle módon próbáltam azonosítani, két dimenziós papirelektroforetikus és két

dimenziós papirkromatográfiás vizsgálattal.

Az elektroforetikus kimutatáshoz Schleicher Schüll 2043-as papiron /56 x 56 cm/ először N/5 NH_4OH /pH = 11,3/ jelenlétében 10 V/cm feszültség-esés mellett 2 órán át, majd az előző irányra merőlegesen 1N CH_3COOH /pH = 2,3/ közegben 3 órán át 15 V/cm feszültség-esés mellett /16/ elektroforizáltam.

Kromatográfiás módszerrel az aminosavakat előbb fenol-víz /1:1/, majd butanol-ecetsav-víz /4:5:1/ rendszerben futtattam leszálló eljárással Whatman 4 papiron /26, 22/. A papír mérete 34 x 34 cm volt.

Előhívó reagensként mind az elektroforézisnél, mind a kromatografálásnál ninhidrint alkalmaztam.

Az aminosavak közül az alanin, treonin szürkésibolya, fenilalanin szürkés, leucinok, metionin, valin, glutaminsav ibolya, halványibolya, aszparaginsav kék, tirozin barnásszürke, prolin sárga, szerin narancs, lizin, arginin halványrózsaszínű foltot ad ninhidrinnel. A foltok azonosítására összehasonlításként párhuzamosan ismert aminosavakat, illetve aminosav keverékeket is vizsgáltam. Mennyiségi meghatározáshoz a foltokat eluáltam.

f/ SH, SS csoportok kimutatása

A szuszpenzióban, illetve kivonatban levő SH és SS csoportokat amperometrikus titrálással hatá-

roztam meg. A KOLTHOFF és munkatársai /29/ által bevezetett eljárást, amelyet gabonaszármazékokra KONG és munkatársai /30/ módosítottak, a BENESCH és LARDY /4/ által javasolt formában alkalmaztam.

A kivonatból 8 ml-t 50 ml-es mérőlombikba 8 m karbamid oldattal jelig töltöttem. A karbamid denaturálja a fehérjéket. A törzsoldatból 5 ml-t 13 ml 8 m karbamid oldathoz pipettáztam, amelyhez előzőleg a BENESCH és LARDY /4/ által előírt pufferoldatból mértem 2 ml-t. A reakcióelegyhez adagoltam 0,25 ml telített Na_2SO_3 oldatot. Ez az SS kötések SH kötéseké redukálja. Végül mikrobürettából 0,001 m AgNO_3 -mal az oldatot megtitráltam. Az SH csoportot tartalmazó fehérje az ezüst ionnal fehérje-ezüst merkaptidot képez. E reakció során az SH és SS csoportokat együttesen mértem.

Az SH csoportok meghatározásához a törzsoldat 25 ml-ét 4 ml pufferoldattal kevertem és hozzáadtam 0,2 ml 1 %-os etiléndiamintetraacetátot, majd 0,001 m AgNO_3 -mal titráltam. E második mérésből az SH csoportok számát, az első és második mérés különbségéből az SS kötések számoltam ki.

A titrálást magyar gyártmányú "Jupiter" automata impulzus titrálóval végeztem. Vonatkoztató elektróda telített kalomel elektróda, a mérőelektró-

da pedig platina elektróda volt. Mérés közben a reakcióelegyet mágneses keverővel tartottam mozgásban. A meghatározás levegő kizárásával nitrogén áramban történt.

g/ A tészta fizikai tulajdonságainak vizsgálata

A tészta fizikai tulajdonságainak változását alveográffal kísérttem figyelemmel /56/.

Négy féle összetételű tészta készült: adalék nélkül, lisztre számított 0,01 % aszkorbinsavval, 97 % liszt + 3 % feltárt keményítőből, valamint 97 % liszt + 3 % feltárt keményítő + 0,01 % aszkorbinsav felhasználásával. A vizsgálatokat az előírásnak megfelelően a tészta 20 perces pihentetése után végeztem.

h/ A kivonat viszkozitásának meghatározása

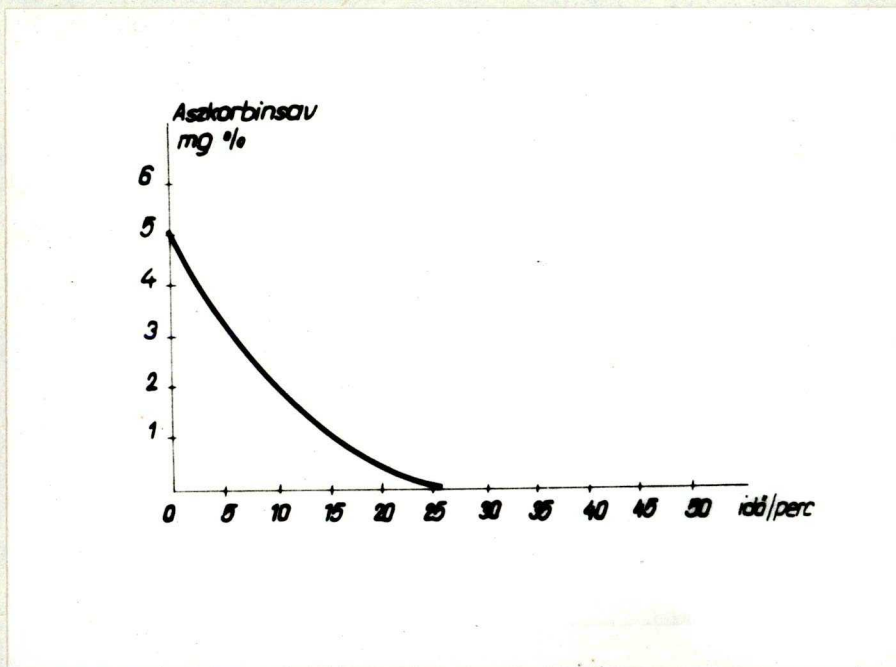
A viszkozitást módosított Oswald-féle viszkoziméterrel mértem 30 C°-on, tejsavval különböző mértékben savanyított közegben.

3. Kísérleti eredmények

A kísérleti eredményeknél minden vizsgálat esetén csak a párhuzamos mérések középértékeként kapott adatokat ismertetem.

a/ Aszkorbinsavtartalom változása a szuszpenzióban

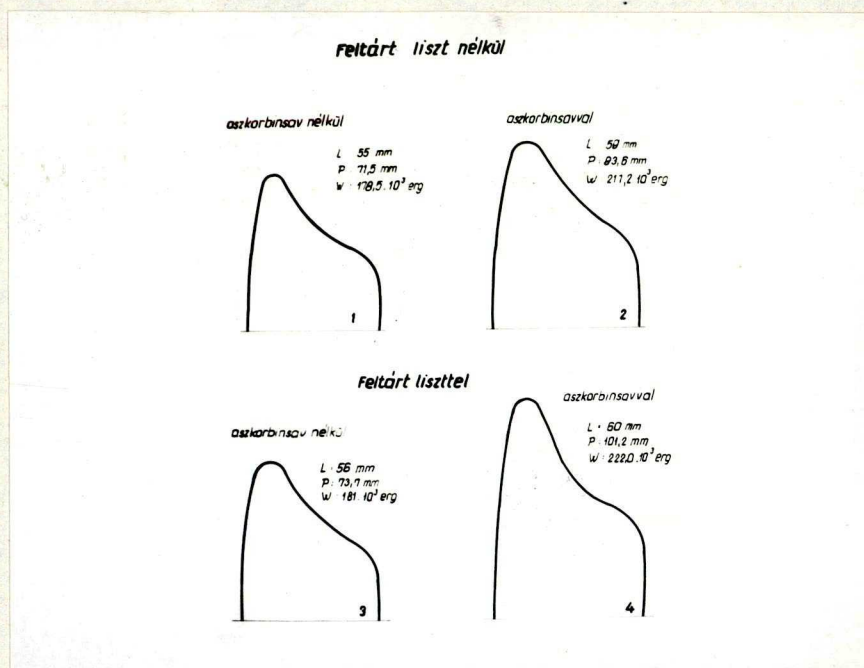
A liszt-víz, illetve liszt + feltárt keményítő-víz szuszpenzióban az aszkorbinsavtartalom változása azonos volt. Az idő függvényében a szuszpenzió súlyára vonatkoztatott mg % aszkorbinsavat az 1. ábra szemlélteti.



1. ábra. Az aszkorbinsav koncentráció változása az idő függvényében

b/ A tészta fizikai tulajdonságainak változása

Alveográfes vizsgálattal jól kimutatható, hogy a tészta nyújthatósága /l/ valamint a nyújtással szemben mutatott ellenállása /P/, a nyújtáshoz szükséges fajlagos munka /W/ számottevően megnőtt. A feltárt keményítőtartalmú liszttel dagasztott tésztánál a változás jelentősebb /2. ábra/.



2. ábra. A vizsgált órleményből készített tészták alveogramjai

c/ A kivonatok összfehérjetartalma

Az egyes kivonatok fehérjetartalmát a következő táblázat foglalja össze:

Kivonat jelzése	Fehérjetartalom %
Adalék nélkül	2,03
Aszkorbinsavval	1,99
3 % feltárt keményi- tővel	2,01
3 % feltárt keményi- tővel és aszko- binsavval	1,98

d/ A kivonatok aminosavösszetétele

A kivonatokból készült hidrolizátumok aminosavösszetétele, a kétféle módon kapott értékeket átlagolva a következő táblázatban látható:

A minta jelzése	Adalék nélkül	Aszko- bin- savval	3 % fel- tárt ke- ményítő- vel	3 % fel- tárt ke- ményítő- vel+asz- korbin- savval
Aminosav				
Alanin	4,8	5,2	5,6	4,9
Arginin	3,1	3,3	3,8	3,0
Aszparaginsav	8,5	9,5	8,8	9,7
Fenilalanin	4,5	4,5	4,7	4,3
Glicin	7,5	7,2	6,9	6,7
Glutaminsav	16,9	16,3	16,5	17,0
Hisztidin	6,1	6,9	6,3	6,5
Leucinok	11,5	11,8	11,0	11,0
Lizin	1,9	2,0	2,1	1,9
Metionin	2,3	2,3	2,5	2,2
Prolin	6,5	6,8	6,3	6,7
Szerin	4,1	3,9	4,5	4,3
Tirozin	4,3	4,5	3,8	4,0
Treonin	4,6	4,4	3,6	3,8
Valin	5,8	5,6	5,4	5,2

Az egyes kivonatok aminosav összetételében számottevő eltérés nincs.

e/ A kivonatokban kimutatható szulfhidril csoportok és diszulfid kötések

A különböző kivonatokban a szulfhidril csoportokat és diszulfid kötések, a kivonatban lévő fehérje egy grammjára vonatkoztatva a következő táblázatban foglaltam össze:

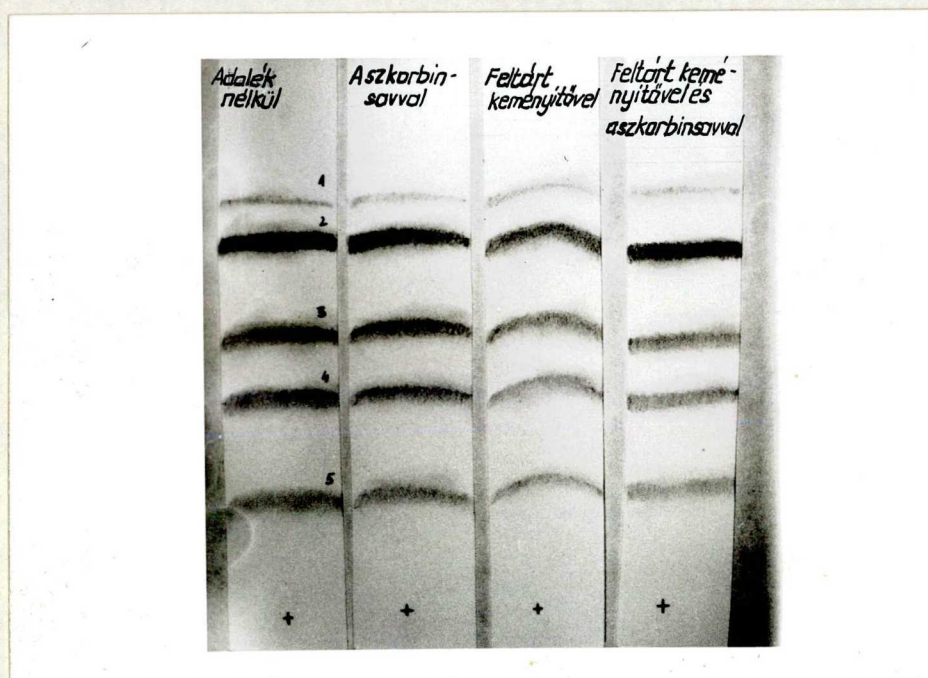
Kivonat jelzése	-SH mol/g fehérje	S-S mol/g fehérje
Adalék nélkül	2,5	96,3
Aszkorbinsavval	1,3	97,0
3 % feltárt keményítővel	2,1	95,5
3 % feltárt keményítővel és aszkorbinsavval	1,2	96,0

Aszkorbinsav hatására mind a csak lisztből, mind pedig a feltárt keményítővel készített szuszpenzió kivonatában csökkent a szulfhidril csoportok száma és valamivel több lett a diszulfid kötés.

f/ A kivonatból elválasztott fehérjefrakciók

A 0,01 mólos tejsavval, erősen savanyú közegben végzett elektroforézis során mind a négy kivo-

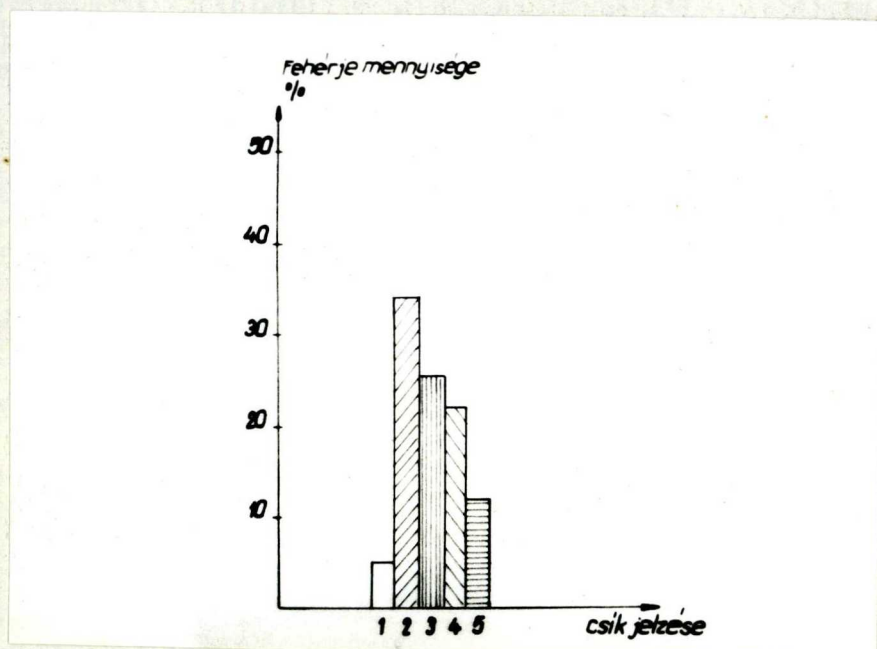
natból egyformán 5 frakció különült el a starttól a pozitív pólus felé vándorolva /3. ábra/.



3. ábra. Az adalék nélkül aszkorbinsavval, feltárt keményítővel, feltárt keményítővel és aszkorbinsavval készült kivonatokból 0,01 mólos tejsavas közegben elektroforézissel elkülönülő frakciók

Az egyes csikok élesen elváltak és ninhidrin-nel erőteljes ibolya színeződést mutattak, így elkülönítésük és a frakciók mennyiségi értékelése nem okozott nehézséget. A csikok távolsága a kiindulási

ponttól 95, 110, 145, 165, 205 mm volt. A felvitt fehérjemennyiség százalékos megoszlása az öt csik között a 4. ábrán látható.

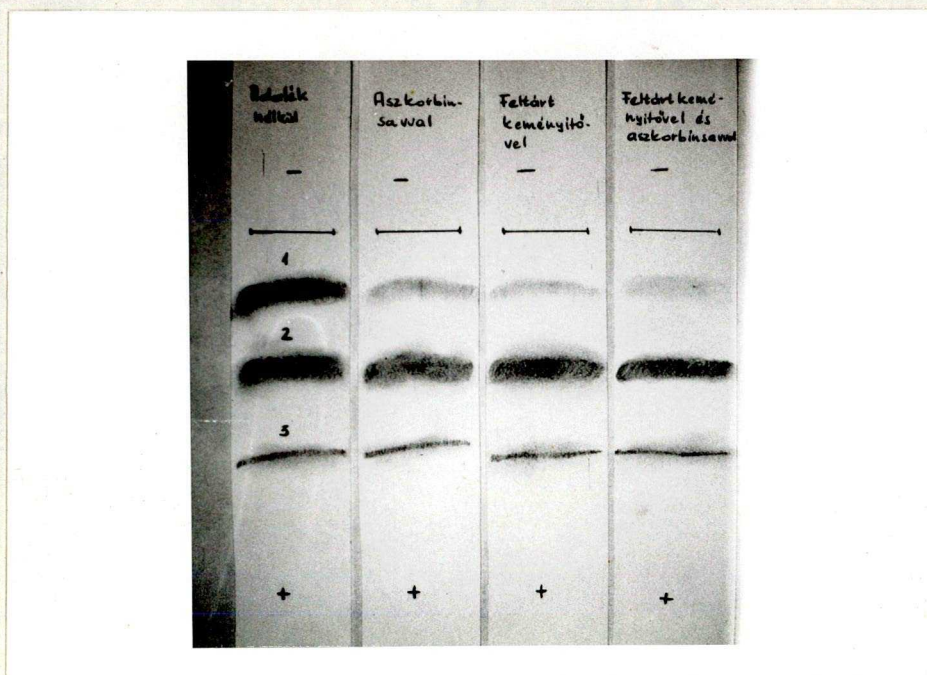


4. ábra. Az összes fehérje százalékos megoszlása az 5 csikban

Ezek az eredmények jól egyeznek más szerzők /11, 2/ megfigyeléseivel.

Tekintettel arra, hogy az aszkorbinsavval és anélkül készült kivonat között eltérés nem mutatkozott, az egyes frakciókat nem vizsgáltam tovább.

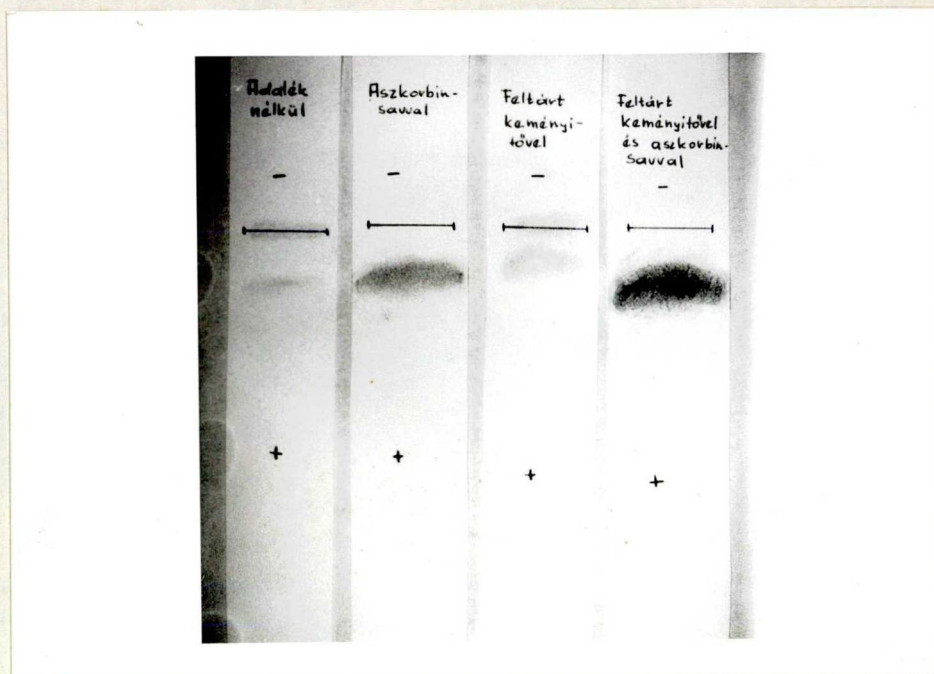
Enyhén savanyú közegben /pH 5,6/ végzett elektroforézis esetén ugyanakkor a négyféle kivonat eredményei között számottevő különbséget lehetett észlelni. A vizsgálati idő alatt csak 3 frakció különült el. Ezek távolsága a starttól 20, 55 és 80 mm. Az 55 és 80 mm-re lévő frakciók mind a négy kivonatnál ninhidrinnel jól színeződnek. A 20 mm távolságon elhelyezkedő csik az adalék nélküli kivonatnál ninhidrinnel lilára jól színeződik, az aszkorbinsavval készült kivonatnál a színeződés valamivel halványabb, enyhe rózsaszín árnyalat lép fel és a csik kissé elmosódik. A feltárt keményítőes kivonatoknál a ninhidrinnel való színeződés kevésbé erőteljes, az aszkorbinsavas mintánál csak egészen halvány rózsaszínű, elmosódott folt jelentkezik /5. ábra/.



5. ábra. pH 5,6-es közegben elektroforézissel elkülönülő csíkok. Előhívás ninhidrinnel

A foltból az anyagot eluálva és 1 %-os sósavval kezelve a kivonat ninhidrinnel élénk színreakciót ad.

A ninhidrinnel különböző intenzitással reagáló folt anilinfélsav reagenssel pozitív színreakciót adott /6. ábra/.



6. ábra. pH 5,6-es közegben elektroforézissel elkülönülő csikok. Előhívás anilinfталáttal

Ebből az következik, hogy adopentozok, aldohexozok, redukáló diszaharidok vannak jelen.

Az anilinfталátsavval festett csikok közül az adalék nélküli kivonatból a kiindulásnál maradt szénhidrát származék. Aszkorbinsav jelenléte esetén a fehérjével vándorló szénhidrát mutatható ki. E frakció mennyisége különösen megnő abban az esetben, ha feltárt keményítőt tartalmazó búzaőrlemény szuszpen-

zióba adagolunk aszkorbinsevat.

A folt kialakításában résztvevő szénhidrátokat nem sikerült izolálni. A fehérjekomponens a feltárt keményítő nélkül, aszkorbinsavval készült kivonat fehérjetartalmának mintegy 15 %-át, a feltárt keményítővel és aszkorbinsavval készült kivonat esetében pedig 38 % körüli mennyiségét teszi ki.

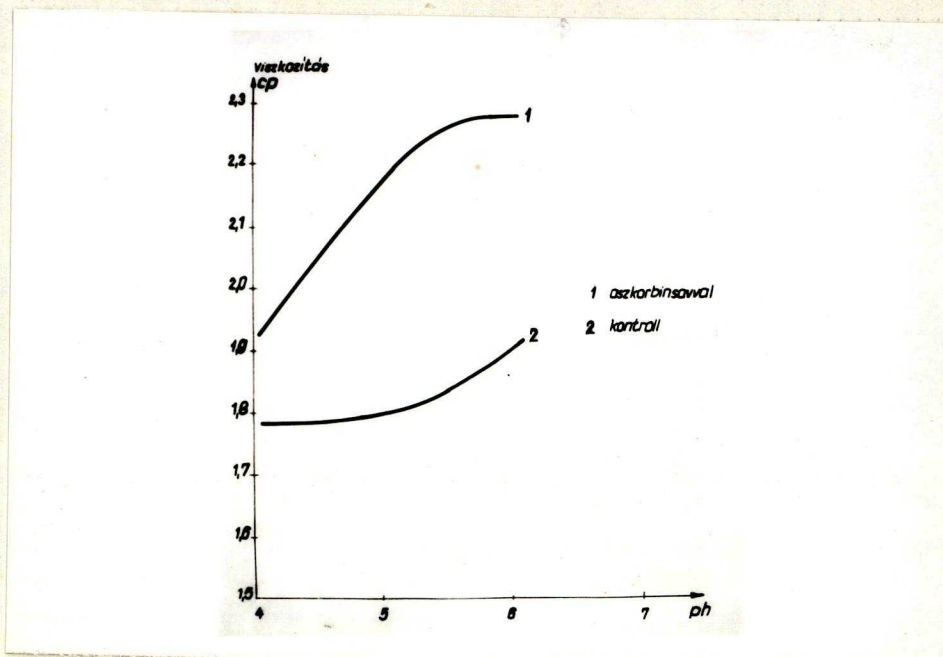
A foltok alakjából arra lehet következtetni, hogy a vizsgált körülmények között együtt vándorló anyag nem egészen egységes, a folt nagyon széles, elmosódó, azonban a szétválasztási kísérletek során az anyag elbomlik. Ezért az együtt jelentkező foltban előforduló anyagból a fehérjék aminosav összetételét meghatároztam. A kapott eredményeket a következő táblázat tartalmazza.



Aminosav megnevezése	Aminosav mennyisége %
Alanin	2,5
Arginin	4,1
Aszparaginsav	3,0
Fenilalanin	4,4
Glicin	1,5
Glutaninsav	22,6
Hisztidin	11,5
Leucinok	6,5
Lizin	2,5
Metionin	4,3
Prolin	12,2
Szerin	4,9
Tirozin	2,2
Treonin	1,5
Valin	1,3

g/ A kivonat viszkozitása

A viszkozitási mérések eredményei közül a feltárt liszttel készült kétféle kivonat viszkozitását a 7. ábra szemlélteti.



7. ábra. Aszkorbinsavval /1-es és anélkül /2-es/ készült búzaőrleménykivonat viszkozitásának változása a pH függvényében

A két görbe alakjából látható, hogy aszkorbinsav hatására a viszkozitás megnő, a változás függ a pH-tól.

4. Következtetések

A kísérletek eredményeiből az alábbi következtetéseket lehet levonni.

A búzaőrleményhez adagolt kismennyiségű aszkorbinsav /0,01 %/ vizes közegben rövid idő alatt /20-25 perc/ elbomlik. Ezzel egyidejűleg jelentősen megváltozik az aszkorbinsavval készült tészta fizikai tulajdonsága, nő a nyújthatóság és fokozódik a nyújtással szemben kifejtett ellenállás.

Az aszkorbinsav kémiai hatását vizsgálva megállapítható, hogy nem befolyásolja az oldható fehérjék mennyiségét, valamint az oldható fehérjék aminosav összetételét. A búzaőrleményből készült tészta tulajdonságainak kedvező változása tehát nem annak a következménye, hogy a vízoldható komponensek rovasára nő a vízben nem oldódó, csak korlátozottan duzzadó fehérjefrakciók mennyisége. Erősen savanyú közegben aszkorbinsav adagolása esetén és anélkül egyaránt azonos fehérjefrakciók különíthetők el. Ez jó összhangban van korábbi kísérletek eredményeivel /44/, amely szerint erősen savanyú közegben az aszkorbinsav nem hat.

Az aszkorbinsav hatására csökken a szulfhidril csoportok száma és valamivel több lesz a diszulfid

kötés. Feltételezhető, hogy az új S-S kötések létrejöttével, különösen ha ez intermolekulárisan következik be, amelynek kis víztartalmú közegben nagy a valószínűsége, fokozódik a hidrogéllé duzzadt sűrűfehérje szivóssága. Azonban ha figyelembe vesszük, hogy a szulfhidril kötések még a vízoldható fehérjében is rendkívül kis mennyiségben fordulnak elő, a vízben oldhatatlan fehérjéknél pedig ennek is csak töredéke található, nehezen értelmezhető a diszulfid kötések változásával a térszertulajdonságok minőségi átalakulása. Ez a hatás önmagában azért sem lehet kielégítő, mert a térszertánál két irányú átalakulás figyelhető meg: a szivósság fokozódása és a jobb nyújthatóság. Az intra- vagy intermolekulárisan létrejövő újabb kötések csak legfeljebb a nyújtással szemben mutatott nagyobb ellenállásra adnak magyarázatot. Az újabb kötésekkel ugyanis a molekulák közötti összetartó erő fokozódik.

A jobb nyújthatóság általában redukáló anyagok, vagy proteolitikus tevékenység hatására következik be /13, 26, 32/. A diszulfid kötések kialakulása oxidációs folyamat. Ugyanazon rendszerben az egyes, már kialakult S-S kötések redukciója és új SH csoportok oxidációja nem képzelhető el. Tekintettel arra, hogy az aszkorbinsav előzetes enzimikus dehidrogéneződés

után oxidációs hatást fejt ki, ezt többek között TSEN /62/ kísérletei egyértelműen bizonyították, ezért a jobb nyújthatóság az eddigi elméletekkel nem értelmezhető.

Az aszkorbinsav hatásmechanizmusának értelmezése szempontjából jelentős eredmény, hogy bizonyos pH tartományban fehérje-szénhidrát komplexumot sikerült kimutatni. A vizsgálati eredmények alapján megállapítható, hogy aszkorbinsav hatására egymással laza kötéssel kapcsolódó fehérje-szénhidrát komplexum, mukoproteid képződik.

A fehérjék és szénhidrátok közötti kötés kialakulása a természetben igen elterjedt, ezeknek általában a biológiai jelentőségük nagy. Eddig főleg az állati eredetű glukoproteineket tanulmányozták behatóbban. A glukoproteineknek a növényekben való előfordulásáról még nagyon kevés ismeret gyűlt össze. Az utóbbi időben elért kutatási eredmények azonban a gabonában, gabonaőrleményekben is feltételezik a poliszaharid-fehérje komplexumok előfordulását, illetve keletkezését.

A fehérje és a szénhidrát származékok egymással kapcsolódhatnak kovalens kötéssel, a fehérje aminoscsoportja és a szénhidrát elektronegatív csoportjai $/-\text{COOH}, -\text{OSO}_3\text{H}/$ között létrejövő sókötéssel, tovább-

bá az egyes komponensek közötti molekulakötéssel.

A fehérje-szénhidrát komplexek az egyes komponensek mennyisége alapján lehetnek muko-poliszaharidok vagy muko-proteidok. Előbbiekre a nagy szénhidrát, utóbbiakra a nagy proteintartalom jellemző.

Kísérleteim során az aszkorbinsav hatására képződő fehérje és szénhidrát komponenseket tartalmazó származékban a fehérje jellegzetes színreakciója ninhidrinnel elmaradt, illetve intenzitása jelentősen csökkent. Erősebben savanyított közegben / $\text{pH} < 4,6$ / a glukoproteid nem mutatható ki. E megfigyelésekből arra lehet következtetni, hogy a fehérje és a szénhidrát származék közötti kötés kialakításában a protein bázisos aminos csoportja vesz részt. A kialakult kötés azonban nem nagyon erős, csak egy bizonyos pH tartományon belül áll fenn.

Feltételezhető, hogy a kis mennyiségben adagolt aszkorbinsav a rendszer redoxpotenciálját megváltoztatja és ezzel fokozza a reakciókészséget a fehérje és szénhidrát molekula között. A vizsgálati eredmények arra engednek következtetni, hogy mucinok képződéséről van szó. A mucin képződése jó összhangban van az aszkorbinsavval készült lisztkivonat viszkozitásának változásával, valamint a tézta nyújthatóságának fokozásával. A mucinok ugyanis vízben oldódó,

de viszkozus nagy molekulák, amelyek erőteljesen savanyú közegben kicsapódnak /57/. A mérések szerint az aszkorbinsavval készült kivonat viszkozitása lényegesen nagyobb, mint a kontroll mintáé és míg az utóbbinál a pH függvényben alig észlelhető változás, az aszkorbinsavas minta viszkozitása a pH függvényében jelentős eltérést mutat /4. ábra/.

A viszkozus anyag képződésével jól értelmezhető a tészta nyújthatóságának fokozódása is anélkül, hogy ellentétbe kerülne a diszulfid kötések létrejöttére épülő elméletekkel.

Ugyancsak magyarázat található arra a meglepő tényre is, hogy ha a búzaliszt 3 százalékát feltárt keményítővel helyettesítem, aszkorbinsav adagolás esetén a tésztatulajdonságok nagyobb mértékű javulása észlelhető, mintha csak természetes állapotú lisztet használok fel. Erre az esetre a korábbi elméletek semmiféle magyarázatot nem tudtak adni. A feltárt keményítő adagolásával ugyanis a fehérje-keményítő arány, amely a tészta reológiai tulajdonságai szempontjából igen jelentős, a keményítő javára tolódik el. Semmiképpen nem lenne érthető, hogy a kevesebb fehérjét tartalmazó rendszerben miért fokozódna az aszkorbinsav hatása. E megfigyelt tény csak úgy válik világossá, ha elfogadjuk, hogy az

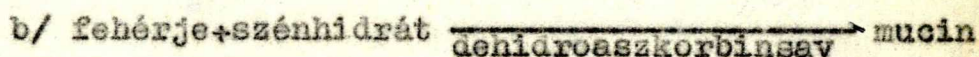
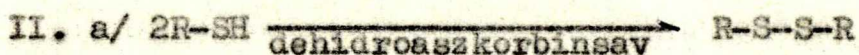
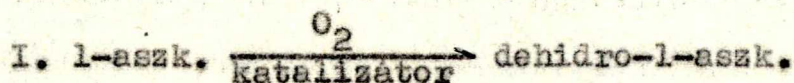
aszkorbinsav hatására nemcsak a fehérjéken meggyégbe átalakulás, hanem a búzaőrlemény egyes szénhidrát komponensei is résztvesznek a kémiai változásban, viszkozus tulajdonságú, nagy molekulásúlyú mucinok képződnek, amelyhez fehérjéken kívül a keményítőből származó szénhidrát bomlástermék is szükséges. A feltevést tovább igazolja az is, hogy a feltárt keményítő mennyiségét 4-5 % fölé emelve a hatás kevésbé érvényesül, ilyen koncentráció mellett már a rendszer alacsonyabb fehérjetartalmából adódó minőségromlás dominál. A kémiai átalakulás fokozódik akkor is, ha a feltárt keményítőből készült vizes extraktot adagoljuk az aszkorbinsavat tartalmazó búzaőrleményhez.

Aszkorbinsav adagolás nélkül a feltárt keményítőnek az aszkorbinsav jelenlétében megismert hatásai nem érvényesülnek.

A keményítő bomlástermék jelenlétének kedvező hatását támasztja alá az a tény is, hogy kismértékben csirázott búza őrleményénél fokozottabb hatás érvényesül, mint az egészséges gabona lisztjénél. A csirázás során többek között ugyancsak keményítő bomlástermékek, dextrinek, cukrok képződnek.

Vizsgálati eredményeim alapján az aszkorbinsavnak a tésztában kifejtett hatására a következő reak-

cióvázlat írható fel:



A két irányú változás párhuzamosan megy végbe, feltehetően a b/ alatt leírt gyorsabban, a nyújthatóság javulása rövidebb reakcióidő után észlelhető, az a/ alatti lassúbb, mert a nyújtással szemben mutatott ellenállás 2-3 óra alatt fokozatosan nő. A rendszer oldható szénhidrát tartalmának kismértékű növelésével az aszkorbinsav hatása fokozottabban érvényesül, a glukoproteinek nagyobb koncentrációban képződnek.

III. Összefoglalás

Kísérleteim során azt tanulmányoztam, hogy a búzaőrleményhez 0,01 %-ban adagolt aszkorbinsav hatására milyen kémiai változások következnek be.

Megállapításaim:

1. A búzaőrleményből készült tésztába adagolt aszkorbinsav 20-25 perc alatt elbomlik.
2. Aszkorbinsav hatására megváltoznak a tészta reológiai tulajdonságai, nő a nyújthatósága és fokozódik a nyújtással szemben mutatott ellenállása.
3. Aszkorbinsav jelenlétében az oldható fehérjék mennyisége nem változik.
4. Az aszkorbinsavat tartalmazó tésztában az SH kötések száma kismértékben csökken.
5. Aszkorbinsav hatására enyhén savanyú kémhatás esetén a tésztában az oldható fehérjékből és szénhidrátokból nagy molekulájú viszkozus anyag, mucin képződik. A feltárt keményítő adagolásával készült kivonatban a mucinok mennyisége nagyobb.
6. Meghatároztam a fehérje-szénhidrát komplexumban előforduló fehérjékben lévő aminosavakat. A glukoproteidben megtaláltam mindazokat az aminosavakat, amelyek a búzaőrlemény vizes extrakciójában kimutathatók.

7. Az aszkorbinsavval készült lisztkivonat viszkozitása lényegesen nagyobb, mint az aszkorbinsav nélkülié, továbbá előbbi esetben a viszkozitás jelentősen függ a pH-tól.

8. Kísérleteim alapján az aszkorbinsav kémiai hatása úgy értelmezhető, hogy első lépésként az aszkorbinsav átalakul dehidroaszkorbinsavvá, majd ezután párhuzamosan két irányú változás megy végbe. Egyrészt az SH csoportok száma csökken, ezzel együtt nő a tészta nyújtással szemben mutatott ellenállása, másrészt mucin képződik és a viszkozus anyag fokozza a tészta nyújthatóságát.

9. A mucin képződését és ezzel együtt az aszkorbinsav javító hatását fokozza a rendszerben jelenlévő kismennyiségű keményítő bomlástermék.

IV. Irodalom

1. American Association of Cereal Chemists: Cereal Laboratory Methods. Minnesota. 1962.
2. Abbot, D.C.: Cer. Sci. Today. 4, 264, 1959.
3. Balls, C.H.: Cereal Chem. 13, 54, 1936.
4. Benesch, R.E., Lardy, H.A., Benesch, R.: J. biol. Chem. 216, 663-676, 1955.
5. Bibra, V.: Die Getreidearten und das Brod. Nürnberg. 1860.
6. Bloksma, A.H.: Bakers Dig. 38, 2, 53-56, 1964.
7. Bukuciav, M.A., Seubert, T.A., Popov, V.R.: Biochimija Zierna 13, 42, 1948.
8. Broekhuysen, J., Broekhuysen, A.: Bul. Soc. Chim. Biol. 39, 883, 1957.
9. Cerutti, G.: Alimentazione, 5, 1956.
10. Cunningham, D.K., Geddes, W.F., Anderson, J.A.: Cer. Chem. 32, 91, 1955.
11. Deschreider, A.R.: Getreide, Mehl u. Brot 12, 42, 1962.
12. Deschreider, A.R.: Getreide, Mehl u. Brot 10, 8, 1960.
13. Dinler, R.J.: Bakers Dig. 5, 35, 1965.
14. Dittmer, A.: Papierelektrophorese. Jena. 1956.
15. Drapron, R.: Bulletin de Meunerie. Fr. 182, 1961.
16. Durrum, E.L.: Colloid. Sci. 6, 274, 1951.

17. Engelhardt, Bukin.: Biochimija Zierna. 2, 275, 1939.
18. Freilich, J.F.: Ind. Engng. Chem. 15, 294, 1937.
19. Freilich, J.F.: Cer. Chem. 16, 485, 1939.
20. Freilich, J.F.: Cer. Chem. 16, 495, 1939.
21. Freilich, J.F.: Cer. Chem. 16, 503, 1939.
22. Hais, I.M., Macek, E.K.: A papirkromatográfia kézikönyve. Budapest, 1961.
23. Jankiewicz, M., Pommeranz, Y.: Cer. Chem. 42, 37, 1965.
24. Jörgensen, H.: Szabadalom /dán/ Nr. 51.879 /1935.
III.29./
25. Jörgensen, H.: Biochem. Hitts. 1, 280, 1935.
26. Kent Jones, D.V., Amos, A.J.: Modern Cereal Chemistry
27. Kohman, Henry, Hoffman, Truman,: Szabadalom /angol/
Nr. 1.148.328 és 1.148.329.
28. Kohman, Henry, Hoffman, Truman: Ind.Engng. Chem. 8,
786, 1916.
29. Kolthoff, J.M., Harris, W.E.: Ind. Engng. Chem. Anal.
Ed. 18, 161, 1946.
30. Kong, R.W., Mecham, D.K., Pence, J.W.: Cereal Chem.
34, 201, 1957.
31. Kostir, J.: Allgemeine Biochemia. Jena. 1963.
32. Kozmina, N.P., Kretovics, V.L.: Biochimija Zerna i
produktov jego pererabotki. Moszkva, 1951.

33. Lásztity, R.: Búzalisztból készült tészták feszültségrelaxációjának vizsgálata. Kandidátusi értekezés. 1960.
34. Lásztity, R.: Sütőipar, 1964. július-augusztus, 124.
35. Lásztity, R., Nedelkovits, J., Szabó, L., Winkler, M.: Élelmiszervizsgálati Közl. 11, 50, 1965.
36. Maltha, P.: Brot u. Gebäck, 9, 6, 101, 1955.
37. Mechan, D.K., Cole, E.G., Sokol, A.H.: Cereal Chem. 41, 1, 1964.
38. Mechan, D.K., Knapp, C.H.: Cereal Chem. 41, 58, 1964.
39. Menger, A.: Getreide u. Mehl. 2, 12, 1954.
40. Meredith, P., Sammons, H.G., Frazek, A.C.: J. of the Science of Food and Agriculture. 11, 6, 320, 1960.
41. Meredith, P., Hlynka, I.: Cereal Chem. 41, 286, 1964.
42. Meredith, P.: Cereal Chem. 42, 64, 1965.
43. Molnár, E.: Sütő és Tésztaipar. 1962. július-augusztus 115.
44. Molnár, E.: Sütőipar. 1964. május-június. 95.
45. Molnár, E.: Sütőipari Kutatóintézet évkönyve. 1959-1964. 32. 1965.
46. Proskuriakov, N.I.: Biochimija Zierna. 5, 443. 1940.
47. Proskuriakov, N.I., Auerman, T.L.: Biochimija. 24, 317. 1959.
48. Read, H.: Cereal Chem. 14, 752, 1937.

49. Read, H.: Cereal Chem. 15, 59, 1938.
50. Read, H.: Cereal Chem. 16, 60, 1939.
51. Ribeiro, L.P., Mitidieri, B., Alfonso, O.R.: Paper
Elektrophoresis Amsterdam-London, New-York-Prin-
ceton. 1961.
52. Ritter, K.: Mühlenlab. 9, 1, és 25, 1939.
53. Rotsch, A.: Brot u. Gebäck. 8, 129, 1954.
54. Schneller, M., Molnár, E.: Sütő és Tésztaipar 1959.
július-szeptember 225.
55. Sullivan, B.: Cereal Chem. 13, 665, 1936.
56. Sütőipari Kutatóintézet: Laboratóriumi vizsgálati
módszerek.
57. Straub, F.B.: Biokémia. Budapest, 1958.
58. Szent-Györgyi, A.: Bioch. J. 22, 1387, 1928.
59. Szent-Györgyi, A.: J. Biol. Chem. 30, 385, 1931.
60. Tolnay, P.: Ipari enzimológia, Budapest, 1963.
61. Zentner, H.: Chem. and Ind. 317, 1960.
62. Tsen, C.C.: Cereal Chem. 42, 86, 1965.

