

Barbara BARANIAK

**Badanie korelacji pomiędzy obróbką surowca a poziomem składników
w koncentratkach białkowych flokulowanych z soku lucerny**

The Studies on the Correlation Between the Treatment of the Raw Materials and the Level of Components
in Protein Concentrates Flocculated from Alfalfa Juice

Podstawowym składnikiem pasz dla zwierząt i pokarmów dla ludzi jest białko, którego jedynym bezpośrednim producentem są rośliny. W procesach żywieniowych wykorzystywane są przede wszystkim ich nasiona, chociaż z jednostki uprawianej powierzchni uzyskuje się z nich kilkakrotnie mniej białka, niż z zielonki. Zastosowanie zielonych części roślin jako paszy dla zwierząt monogastycznych wymaga oddzielenia białka od balastu włóknika w procesie mechanicznej ekstrakcji soku. Koncentraty białkowe wytrącane są z soku roślinnego termicznie, kwasowo lub polielektrolitami. Poziom poszczególnych składników odżywczych w preparatach białkowych otrzymywanych z soku zielonych części roślin decyduje o ich przydatności w procesach żywieniowych. Liczne badania udowodniły, że skład chemiczny uzyskiwanych koncentratów uzależniony jest od gatunku zastosowanego surowca (9, 22), sposobu macerowania materiału roślinnego (13), oraz metody zastosowanej do koagulowania białek z soku (4, 21). Różnice w zawartości znaczących komponentów mogą być powodowane zmianą pH soku roślinnego, jak również sposobem suszenia wytrącanego koagulatu.

Celem przedstawionych badań jest porównanie składu chemicznego koncentratów chloroplastowych flokulowanych z soku lucerny, odwirowanego i bez zabiegów wstępnych oraz suszonych termicznie i liofilizacyjnie.

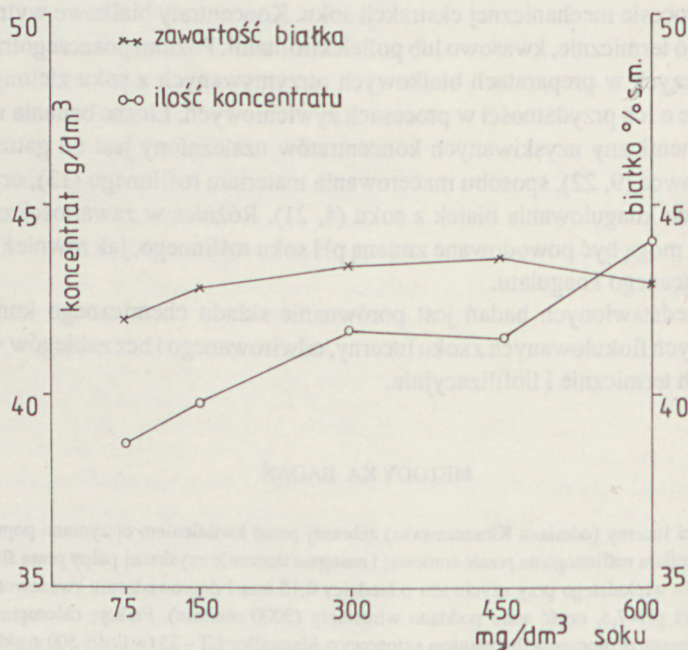
METODY KA BADAŃ

Sok z zielonki lucerny (odmiana Kleszczewska) zebranej przed kwitnieniem otrzymano poprzez wstępne rozdrobnienie materiału roślinnego na prasie śrubowej i następne tłoczenie uzyskanej pulpy prasą ślimakową. Po usunięciu materiału włóknistego przy użyciu sita o średnicy 0,15 mm i doprowadzeniu kwasowości soku 2 M NaOH do wartości pH=7,5, część soku poddano wirowaniu (3000 obr/min). Frakcję chloroplastową białek wytrącano w temperaturze otoczenia flokulantem anionowym Magnafloc LT-25 (w ilości 300 mg/dm³) zarówno z soku wirowanego, jak i niewirowanego. Koagulatory suszono w temperaturze 60°C lub liofilizowano (w celu

przyspieszenia procesu osad przed liofilizacją wstępnie odsączono), a po zmieleniu przechowywano w temperaturze ok. 6°C. W otrzymanych preparatach oznaczono zawartość białka ogólnego (N ogólny x 6,25) metodą Kjeldahla na automatycznym aparacie Kjel-Foss, białko właściwe (N białkowy x 6,25) z 10% kwasem trójchlorooctowym, zawartość karotenów i ksantofili metodą Bootha (6), skład aminokwasowy białka metodą chromatografii jonowymiennej w analizatorze aminokwasów Aminochrom II. Hydrolizę kwaśną białka przeprowadzono przy zastosowaniu 6M HCl (1), po uprzednim utlenieniu próbki kwasem nadmanganowym (19). Rozdział białka na frakcje przeprowadzono metodą Coates'a i Simmondsa (11) w modyfikacji Jankiewicza i Pomerańza (15). Oznaczenie zawartości Cu, Fe, Mn, Ca, Mg i K wykonano metodą spektrofotometrii absorpcyjnej na aparacie Pye-Unicam model Sp.9, po uprzednim spaleniu prób w piecu mufowym w temperaturze 500°C (16).

WYNIKI I DYSKUSJA

Pozyskiwanie z soku zielonych części roślin białek cytoplazmatycznych przeznaczonych do celów żywieniowych znacznie poprawiłoby ekonomikę otrzymywania koncentratów paszowych. Taką możliwość daje zastosowanie do koagulacji frakcji chloroplastowej flokulantów, których istotną zaletą jest działanie w temperaturze otoczenia. Z uwagi na to, że efektywność stosowania polielektrolitów uwarunkowana jest zarówno ich budową, jak i składem chemicznym soku, w początkowej fazie badań ustalono zależność pomiędzy stężeniem flokulanta a ilością koncentratu i zawartością procentową w nim białka. Jak wynika z ryc. 1 optymalnymi warunkami (z uwzględnieniem własności filtracyjnych uzyskanych osadów) okazało się stężenie 300-450 mg czynnika strącającego na 1 dm³ soku. W badaniach zastosowano 300 mg anionowego flokulanta Magnafloc LT – 25 do koagu-



Ryc. 1. Wpływ stężenia flokulanta na ilość koncentratu i zawartość w nim białka
Effect of flocculant concentration on amount of concentrate and protein content

Tab. 1. Skład chemiczny koncentratów białkowych otrzymanych z soku lucerny
Chemical composition of the protein concentrates obtained from alfalfa juice

Koncentraty chloroplastowe	Białko ogółem % s.m.	N białkowy % s.m.	N białkowy (% w białku ogółem)	Karoteny mg/kg	Ksantofile mg/kg	% karotenów w karoteno-idach)	Frakcja I	Frakcja II	Frakcja III
Z soku wirowanego	38,7	25,6	73	162,4	325,9	33	17,7	—	10
Z soku niewirowanego suszony w temp. 60°C liofilizowany	44,8	22,8	54	127,3	336,3	28	18,1	—	6,3
	52,6	35,1	66	630,4	1260,8	33	11,5	20,8	17,3
Odwirowany osad	29,4	14,9	51	174,2	277,8	39	37	—	9,5

lowania frakcji chloroplastowej z soku odwirowanego, jak i niewirowanego. Odwirowany osad zawierał 29,7% białka ogółem – można go więc stosować jako nieco gorszej jakości komponent paszowy (tab. 1). Najwięcej białka ogółem i białka właściwego zawierał koncentrat liofilizowany, natomiast procentowy udział białka w ogólnej ilości związków azotowych był najwyższy dla koncentratu flokulowanego z soku wstępnie wirowanego.

Suszenie koagulatów jest drugim (obok wytrącania termicznego) etapem w produkcji koncentratów wymagającym znacznych nakładów energetycznych. W trakcie tego procesu przebiega degradacja składników odżywczych, a w szczególności karotenoidów (3). W koncentracie liofilizowanym zawartość karotenów była pięciokrotnie, a ilość ksantofili czterokrotnie wyższa niż w pozostałych preparatach. Zawartość poszczególnych frakcji białkowych również była inna – jedynie w tym preparacie uzyskano frakcję białek rozpuszczalną w kwasie octowym. Spowodowane jest to częściową denaturacją białek, zachodzącą podczas suszenia preparatów w podwyższonej temperaturze. Nieco różny udział procentowy frakcji białkowych (tab. 1) w koncentratach otrzymanych z soku odwirowanego i niewirowanego świadczy o możliwości efektywniejszego oddziaływania flokulanta na sok, z którego makrocząsteczki zostały usunięte. Ten fakt potwierdza wysoki udział procentowy białka w ogólnej ilości związków azotowych w przypadku koncentratu flokulowanego z soku wstępnie wirowanego. Wydajność wytrącania białka i suchej masy dla tego preparatu była oczywiście najniższa, ale w stosunku do preparatu flokulowanego z soku niewirowanego różnice te wynosiły ok. 20% (tab. 2). Zarówno ilość odzyskanej suchej masy, jak i białka była najwyższa w przypadku koncentratu liofilizowanego – wynosiła w

Tab. 2. Zawartość suchej masy i białka w lucernie i frakcjach otrzymanych w procesie ekstrakcji
Composition of dry matter and protein of alfalfa and extracted process fractions

Wyszczególnienie	Zawartość		Podział składników		Wydajność wytrącania			
	Sucha masa %	Białko % d.m.	Sucha masa *	Białko *	Sucha masa g/dm ³	Sucha masa **	Białko g/dm ³	Białko ** x g/dm ³
Zielonka lucerny	16,2	25,5	100	100				
Wytłoki	24,2	20,7	75	61				
Zielony sok	8,0	40,0	25	39	80	100	32	100
Koncentraty								
– z soku wirowanego		38,3	12,4	18,6	40	50	15,3	47,8
– z soku niewirowanego:								
suszony w temp. 60°C		44,8	14,6	25,6	47	58,7	21,1	65,8
lioofilizowany		52,8	15,5	32,0	50	62,5	26,4	82,4

* Wartości wyrażone jako % suchej masy i białka lucerny

** Wartości wyrażone jako % suchej masy i białka soku

stosunku do lucerny odpowiednio 15,5% i 32% (tab. 2). Skład aminokwasowy białka koncentratów z soku zielonych części roślin, wg niektórych autorów (10, 22), powinien być stały, gdyż wyekstrahowane białko stanowi mieszaninę jego frakcji biorących u różnych

Tab. 3. Zawartość aminokwasów w koncentratkach białkowych otrzymanych z soku lucerny
Amino acid content in protein concentrates obtained from alfalfa juice

Aminokwas	W g/100 g białka				W procentach całkowitej ilości odzyskanych aminokwasów			
	Z soku odwirowanego	Z soku niewirowanego	liofilizacja	Odwirowany osad	Z soku odwirowanego	Z soku niewirowanego 60°C	Liofilizacja	Odwirowany osad
Lys	3,18	4,71	4,92	69,292,77	4,67	5,95	5,48	4,00
Phe	5,17	5,43	6,02	4,84	7,59	6,86	6,71	6,99
Met	1,92	2,62	2,73	1,91	2,82	3,31	3,04	2,76
Cys	1,49	1,38	1,79	0,91	2,19	1,74	2,00	1,31
Thr	2,66	4,02	5,05	3,45	3,90	5,08	5,63	4,98
Leu	6,59	7,52	8,61	7,19	9,67	9,50	9,60	10,38
Ile	4,61	4,77	5,67	4,63	6,76	6,03	6,32	6,68
Val	4,79	5,43	6,24	5,25	7,03	6,86	6,96	7,58
Arg	3,16	5,01	5,89	2,11	4,64	6,33	6,57	3,05
Asp	8,97	9,06	10,47	9,18	13,16	11,45	11,67	13,25
Ser	3,82	6,07	7,41	4,36	5,60	7,67	8,26	6,29
Glu	9,36	10,16	11,26	9,75	13,73	12,83	12,55	14,07
Pro	2,86	3,92	3,17	4,10	4,20	4,95	3,53	5,92
Gly	4,55	4,71	5,27	4,55	6,68	5,95	5,87	6,57
Ala	5,02	4,98	5,21	4,28	7,37	6,29	5,81	6,18
Suma	68,16	81,17	89,71	69,29				
EAAI	64,50	79,16	90,62	59,93				
Aminokwas ograniczający amino acid CS	Lys 45	Ile 62	Met 93	Arg 33				

roślin udział w tych samych procesach fizjologicznych. Pogląd przeciwny (5, 8) uzasadniony jest różnym stosunkiem ilościowym białek enzymatycznych w roślinach, bądź obecnością w koncentratkach większych ilości tłuszczów czy węglowodanów, które mogą powodować trudności w analizie aminokwasów. Z uwagi na to, że skład aminokwasowy białka może przynajmniej częściowo tłumaczyć różnice wartości pokarmowej otrzymanych preparatów, wydaje się celowe jego oznaczanie, szczególnie przy wprowadzaniu nowych technologii. Wyniki przedstawionych badań wykazały różnice w składzie aminokwasowym białka koncentratów spowodowane nie tylko różną obróbką wytłoczonego soku, ale również sposobem suszenia otrzymanego preparatu. Najzasobniejszy we wszystkie oznaczane aminokwasy był koncentrat liofilizowany (tab. 3). Różnice te ulegają zmniejszeniu, jeśli otrzymane wyniki przedstawimy jako procent całkowitej ilości oznaczonych aminokwasów. W takim układzie najwięcej feniloalaniny, cysteiny, leucyny i kwasu asparaginowego posiadał koncentrat flokulowany z soku wstępnie wirowanego (tab. 3). Wszystkie otrzymane koncentraty charakteryzował dość wysoki poziom aminokwasów siarkowych (od 3,4 do 4,5). Wielkości te były zbliżone do wartości otrzymanych przez *Carlsona* i *Hanczarkowskiego* (9) w koncentratkach wytrąconych termicznie z soków naziemnych części warzyw, natomiast wyższe od ilości znalezionych przez *Horigomeana* i *wsp.* (14), w koncentratkach z lucerny, koniczyny i owsa oraz od poziomu tych aminokwasów w preparatach uzyskanych z rutwicy, traganka, łubinu, rdestu i sidy przez *Klinckar* i *wsp.* (17). Najzasobniejsze w aminokwasy egzogenne było białko koncentratu liofilizowanego (wartość wskaźnika EAAI=91) i dla tego preparatu metionina była aminokwasem ograniczającym, zgodnie z tym, co podaje większość badaczy białka liściowego (12). Aminokwasem ograniczającym białko koncentratu flokulowanego z soku bez wirowania wstępnego była izoleucyna, koncentratu z soku wirowanego – lizyna, natomiast osadu odwirowanego – arginina.

Obok składników takich jak białko i karotenoidy bardzo ważnymi czynnikami pokarmowymi dla zwierząt są mikro- i makropierwiastki (2, 18). Wszystkie otrzymane w przedstawionych badaniach koncentraty charakteryzowała wysoka zawartość tych skład-

Tab. 4. Zawartość składników mineralnych w koncentratkach białkowych
Mineral composition of protein concentrates

Koncentraty chloroplastowe	Makroelementy % s.m.			Mikroelementy mg/kg s.m.			
	K	Ca	Mg	Cu	Mn	Fe	Popiół % Ash
Z soku wirowanego	4,49	3,18	0,68	21,06	115,09	1289,60	29,71
Z soku niewirowanego							
Suszony	2,12	3,61	0,57	25,03	106,99	1232,91	22,28
Liofilizowany	1,71	2,80	0,24	48,44	144,45	1273,86	15,08

ników (tab. 4), a otrzymane ilości przekraczały te, które znaleźli *Bubicz* i *wsp.* (7) badając skład mineralny koncentratów wytrąconych termicznie z soku różnych odmian lucerny. Najmniej makroelementów posiadał koncentrat flokulowany z soku odwirowane-

go, tylko stężenie potasu w tym preparacie było z punktu widzenia żywieniowego zbyt wysokie. Natomiast zawartości magnezu przekraczały we wszystkich otrzymanych preparatach niezbędne dla zwierząt minimum (0,2% Mg w suchej masie). Zawartość makroskładników była najwyższa w koncentracie liofilizowanym. Na szczególną uwagę zasługuje wysoki poziom żelaza, którego zawartość przekroczyła 1200 mg/kg, we wszystkich otrzymanych koncentratkach.

Wyniki przedstawionych badań wskazują, że nie tylko metoda koagulacji białek z soku, ale również jego wstępne przygotowanie i sposób suszenia wytrąconego koagulatu mogą mieć znaczący wpływ na skład chemiczny otrzymywanych koncentratów.

WNIOSKI

1. Koncentraty chloroplastowe aglomerowane flokulantem anionowym Magnafloc LT – 25 charakteryzują się wysoką zawartością mikro- i makropierwiastków.
2. Koncentrat liofilizowany był najzasobniejszy we wszystkie badane składniki.
3. Procentowy udział białka w ogólnej ilości związków azotowych był najwyższy dla koncentratu flokulowanego z soku wstępnie odwirowanego.
4. Białko preparatów koagulowanych flokulantem anionowym Magnafloc LT – 25 charakteryzowało się wysokim poziomem aminokwasów siarkowych.

Praca wpłynęła 1 07 1992

PIŚMIENICTWO

1. Alexander P., Block J.R.: A Laboratory Manual of Analytical Methods of Protein Chemistry. Pergamon Press, New York 1960.
2. Alloway W.H.: Agronomic Control Over the Environmental Cycling of Trace Elements. Adv. Agron., 20, 235, 1968.
3. Arcoll D.B., Holden M.: Changes In chloroplast Pigments During the Preparation of Leaf Protein. J. Sci. Food Agric. 24, 1217, 1973.
4. Baraniak B.: The Effect of Flocculant Applied in the Process of Fractionating Alfalfa juice on the Chemical Composition of the Obtained Protein Concentrates. Anim. Feed Sci. Technol. 31, 305, 1990.
5. Baraniak B., Bubicz M.: Skład aminokwasowy i rozpuszczalność białka koncentratów otrzymanych w procesie frakcjonowania flokulantami soku z lucerny i kupkówki. Roczn. Nauk Roln. s.A, 108, 2, 9, 1989.
6. Booth V.H.: Carotene, its Determination in Biological Materials. Heffer, Cambridge, 49, 1957.
7. Bubicz M., Jelinowska A., Majewski K.: Zawartość mikro- i makroelementów w zielonce i koncentratkach białkowych z lucerny. Pam. Puł. 78, 139, 1982.
8. Byers M.: The Amino Acid Composition of Some Leaf Protein Preparations. W Leaf Protein, Its Agronomy Preparation. ed. Pirie N.W., Blackwell Sci. Publ., 95, 1972.
9. Carlsson R., Hanczakowski P.: Waste Green Parts of Plants as Raw Material for Leaf Protein Concentrate Production. Biol. Wastes, 28, 83, 1989.
10. Chibnall A.C., Rees M.W., Lugg J.W.: The Amino Acid Composition of Leaf Proteins. J. Sci. Food Agric. 14, 234, 1963.
11. Coates J.H., Simmonds D.H.: Protein of Wheat Flour Extraction, Fractionation and Chromatography of Buffer Soluble Proteins of Flour. Cereal Chem. 38, 3, 256, 1961.
12. Hanczakowski P.: Skład i wartość pokarmowa koncentratów białkowych z zielonek. Roczn. Nauk Roln. s.B., 97, 85, 1975.

13. Heath S.: Plant Proteins. ed. Norton Butterworths. London, 171, 1978.
14. Horigome T., Kim J.K., Uchida S.: Nutritive Quality of Leaf Proteins Coagulated at Different pH. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.* 29, 511, 1983.
15. Jankiewicz M., Pomeranz Y.: Isolation and Characterization of Wheat Flour Proteins. I. Separation of Salt- and Acetic- Dispersible Proteins by Gel Filtration, Polyacrylamide Gel Electrophoresis and Sucrose Gradient Ultracentrifugation. *J. Sci. Food Agric.* 16, 11, 644, 1965.
16. Kamińska W., Roszyk E., Roszyk S., Strahl A.: Przydatność suchej mineralizacji materiału roślinnego do oznaczeń zawartości żelaza i niektórych mikroelementów. *Roczn. Glebozn.* 29, 2, 43, 1978.
17. Klinkarie A. A., Upitie D. J., Łupmanie W. A.: Ispolzovanie nietradicionalnykh rastenij dla pouczenia proteinowych koagulatow. *Izw. Ak. Nauk Łotew. SSR* 8, 77, 1988.
18. Koetsveld E. van: Die Probleme des Zinks in Rinderernahrung. *Vortr. Intern. Symp. Jena*, 319, 1966.
19. Moore S.: On the determination of cysteine and cysteic acid. *J. Biol. Chem.* 238, 2, 235, 1963.
20. Oshima M., Ueda H.: Effect of Fermentative Coagulation on the Yield and Amino Acid Composition of Leaf Protein Concentrates. *Jap. J. Zootech. Sci.* 57, 5, 410, 1986.
21. Ostrowski-Meissner H. T.: Quantities and Quality of Protein Extracted from Pasture Herbage Using Heat Precipitation or Ultrafiltration Procedures. *J. Sci. Food Agric.* 31, 177, 1980.
22. Stahmann M. A.: The Potential for Production from Green Plants. *Econ. Bot.* 22, 73, 1968.

SUMMARY

Protein concentrates were coagulated from alfalfa juice (Kleszczewska variety) by means of anion flocculant Magnafloc LT-25, in the quantity of 300 mg/dm³. Centrifuged juice (3000 r.p.m.) with no initial treatment was used in the studies. The preparations obtained in this way were dried at the temperature of 60°C or through freeze-drying. The chemical composition of the agglomerates was examined. The concentrate dried through freeze-drying was rich in carotenoids, protein, amino acids and it possessed protein fractions soluble in the highest degree. On the other hand, the percentage proportion of protein in the total quantity of nitric compounds was the highest in the concentrate flocculated from initially centrifuged juice. The protein of all the preparations was characterized by a high level of sulphuric amino acids.