

Barbara BARANIAK, Maria BUBICZ,
Małgorzata NIEZABITOWSKA

**Wybrane własności odżywcze i funkcjonalne koncentratów białkowych
otrzymanych z soku liści tytoniu**

Some Nutritive and Functional Properties of Protein Concentrates Obtained from Tobacco Leaves Juice

W procesach otrzymywania koncentratów białkowych z zielonych części roślin (LP – Leaf Protein Concentrate) wykorzystuje się jako surowiec głównie lucernę, ponieważ posiada ona wysoką zawartość białka, którego wartość biologiczna jest zbliżona do białka soi. Niebagatelną rolę odgrywa możliwość zbioru stosunkowo dużej liczby pokosów tej rośliny. Prowadzone są również badania nad innymi gatunkami roślin uprawnych, jak trawy, słonecznik, rzepak, kapusta pastewna, a także nad liśćmi buraczanymi czy łętami ziemniaczanymi.

W ostatnich latach zwrócono uwagę na wykorzystanie do celów paszowych tytoniu, którego obszerne liście są zasobne w białko. Tytoń, jak większość roślin, zawiera substancje szkodliwe – alkaloidy (głównie nikotynę), które ujemnie wpływają na zdrowie zwierząt. Podawanie zielonki jako paszy może więc powodować zaburzenia w rozwoju zwierząt. Korzystne jest oddzielenie białka od innych związków występujących w tytoniu. W tym celu materiał roślinny poddawany jest rozdrobniению, a następnie mechanicznej ekstrakcji. Z otrzymanego soku można koagulować koncentraty białkowe lub wyodrębnić do celów farmaceutycznych Frakcję I białka (9, 16). Drugi produkt – wytloki mają zastosowanie do produkcji papierosów. Tytoń jest rośliną drogą w uprawie, dlatego jego dodatkowe zastosowanie pozwoli na zwiększenie opłacalności hodowli tej rośliny.

W niniejszej pracy otrzymano koncentraty białkowe z soku liści tytoniu stosując do ich wytrącania różne metody i porównano skład chemiczny i własności funkcjonalne otrzymanych preparatów.

METODYKA BADAŃ

Zielony sok otrzymano poprzez wstępne rozdrabnianie liści tytoniu na prasie śrubowej i następne tłoczenie uzyskanej pulpy na prasie ślimakowej. Frakcję chloroplastową białek wytrącano następującymi metodami:

- 1) termicznie – ogrzewając sok do temperatury 85°C,

- 2) kwasowo – doprowadzając pH soku za pomocą 2 mol/dm^3 HCl do wartości 3,5,
- 3) flokulantami – wprowadzając je do soku o temperaturze otoczenia w ilości 500 mg/dm^3 soku. Zastosowano dwa polielektrolity o charakterze kationowym – Magnafloc LT-24 i M-22S, które dodano do soku o pH=6,5 i dwa anionowe – Magnafloc LT-25 i LT-27 wprowadzając je do soku, którego pH wynosiło 7,5.

Otrzymane preparaty suszono w temperaturze 50°C i po zmieleniu przechowywano w temperaturze ok. 6°C . W uzyskanych koncentraty oznaczono ogólną zawartość białka metodą Kjeldahla na automatycznym aparacie Kjeld-Foss ($\text{N} \times 6,25$), białko właściwe jako nierozpuszczalne w 10% kwasie tróchlorooctowym, skład aminokwasowy białka w analizatorze aminokwasów Aminochrom II. Hydrolizę kwaśną białka przeprowadzono przy zastosowaniu 6 mol/dm^3 HCl (1), po uprzednim utlenieniu aminokwasów siarkowych kwasem nadmanganowym (13). Rozpuszczalność białka oznaczono według metody podawanej przez Betschart (4), natomiast jego rozdział na frakcje przeprowadzono metodą Coatesa i Simmondsa (8) w modyfikacji Jankiewicza i Pomerańza (12). Zawartość karotenów i ksantofili określono metodą Bootha (5), a absorbując wody i tłuszczu wg Rutkowskiego (15).

WYNIKI I DYSKUSJA

Własności odżywcze koncentratów białkowych otrzymanych z soku zielonych części roślin zależą od gatunku rośliny (3, 11), jej fazy rozwoju (6, 7), jak również od metody zastosowanej do wytrącania preparatów. Zawartość białka ogólnego wahała się w granicach od 28% do 39%. Najzasobniejszy zarówno w białko ogółem, jak i w azot białkowy był koncentrat wytrącony termicznie. Zawartości białka w pozostałych preparatach były zbliżone, przy czym najmniejsze jego ilości znaleziono w koncentracie wytrąconym flokulantem kationowym M-22S (tab. 1). Ilość białka odzyskanego w tym koncentracie z 1 dm^3 , jak i wydajność jego wytrącania były również w przypadku użycia tego czynnika strącającego najniższe (tab. 2). Natomiast zastosowanie flokulantów anionowych dało lepsze wydajności wytrącania zarówno białka, jak i suchej masy w stosunku do uzyskanych wyników dla koncentratu aglomerowanego kwasem.

Badania przeprowadzone nad frakcjonowaniem białek z wytrąconych koncentratów wykazały, że można z nich wyizolować dwie frakcje – pierwszą rozpuszczalną w buforze fosforanowym o pH=7,0 i drugą rozpuszczalną w $0,1 \text{ mol/dm}^3$ NaOH. Procentowy udział tych frakcji w białku ogólnym uzależniony był od metody zastosowanej do wytrącania preparatów (tab. 1). Najwięcej globulin i albumin zawierało białko koncentratów flokulantami kationowymi (frakcja I), najmniej otrzymane kwasowo. Natomiast procentowy udział frakcji rozpuszczalnej w NaOH był najwyższy w przypadku preparatu wytrąconego kwasem. Ta odzyskana ilość białka była prawie sześciokrotnie wyższa od zawartości frakcji drugiej otrzymanej z koncentratu wytrąconego termicznie. Uzyskane wyniki wskazują, że białko koncentratów chloroplastowych otrzymanych różnymi metodami z soku liści tytoniu składa się w przeważającej części z białek nierozpuszczalnych.

Jednym z głównych czynników decydujących o wartości odżywczej preparatów białkowych jest ich skład aminokwasowy. Skład aminokwasowy białka otrzymanych koncentratów był uzależniony od sposobu ich wytrącania. Różnice wystąpiły zarówno pomiędzy koncentratami otrzymanymi termicznie i kwasowo, jak również w preparatach wytrąconych flokulantami. Największe wahania uzyskano w zawartości lizyny, leucyny, kwasu asparaginowego, seryny, kwasu glutaminowego i proliny (tab. 3). (Dane przedstawiono w procentowej zawartości w białku i jak % całkowitej ilości oznaczonych aminokwasów).

Tab. 1. Skład chemiczny koncentratów białkowych otrzymanych z soku tytoniu
Chemical composition of the protein concentrates obtained from tobacco leaves juices

Koncentraty	Białko ogółem (% s.m.)	Białko właściwe (% s.m.)	% Białka właściwego w białku ogółem	Procentowy udział Frakcji I w białku ogólnym	Procentowy udział Frakcji II w białku ogólnym	Karoteny (mg/kg s.m.)	Ksantofile (mg/kg s.m.)	% karotenów w karotenoidach
Termiczny (85°C)	38,9	35,1	90	17,5	5,1	400,69	641,40	38
Kwasy (pH = 3,5)	30,4	21,3	70	13,6	28,96	64,11	170,97	27
Flokulant LT-25	31,7	21,2	67	18,3	5,7	58,77	166,87	26
Flokulant LT-27	31,5	21,6	69	16,0	6,2	53,43	170,96	24
Flokulant LT-2S	27,7	18,8	68	23,6	7,5	139,98	309,87	31
Flokulant LT-24	29,6	19,7	67	25,3	8,8	165,26	395,35	29

Tab. 2. Zawartość suchej masy i białka w soku liści tytoniu i ich rozdział w otrzymanych koncentratkach
 Dry matter and protein content in tobacco leaves juice their distribution in the concentrates obtained

Wyszczególnienie	Zawartość			Wydajność wytrącania		
	Sucha masa (%)	Białko ogólne (% s.m.)	Białko (g/dm ³)	Białko*	Sucha masa (g/dm ³)	Sucha masa*
Zielony sok	7,10	24,11	17,12	100	71	100
Koncentraty						
Termiczny (85°C)		38,90	15,17	88,6	39	54,9
Kwasowy (pH = 3,5)		30,40	12,16	71,0	40	56,3
Flokulant LT-25		31,70	12,99	75,9	41	57,7
Flokulant LT-27		31,50	13,23	77,3	42	59,2
Flokulant LT-22S		27,70	8,86	51,8	32	45,1
Flokulant LT-24		29,60	10,36	60,5	35	49,3

* Wartości wyrażone jako procent suchej masy i białka soku

Koncentrat wytrącony kwasem posiadał najmniejszą procentową zawartość lizyny, fenyloalaniny i argininy w stosunku do całkowitej ilości odzyskanych aminokwasów (tab. 3). Natomiast ilości aminokwasów siarkowych (metioniny i cysteiny), zarówno w zielonce tytoniu, jak i otrzymanych z jego soku koncentratów, były wysokie – stanowiły od 4,2 do 5,2% całkowitej ilości odzyskanych aminokwasów (tab. 3). Aminokwasy siarkowe są podawane przez większość badaczy jako aminokwasy ograniczające białko koncentratów otrzymywanych z soków roślinnych (7, 10). W niniejszej pracy aminokwasem ograniczającym białko koncentratów wytrąconych flokulantami – zarówno kationowymi, jak i anionowymi – była arginina, dla koncentratu termicznego – izoleucyna, natomiast dla preparatu otrzymanego kwasem – lizyna (tab. 3).

Najzasobniejsze w aminokwasy egzogenne okazało się białko preparatu wytrąconego flokulantami kationowymi (wskaźnik EAAI równy 80 po zastosowaniu LT-24), najuboższy koncentrat otrzymany termicznie (wartość EAAI 60). Zmiany w składzie aminokwasowym białka preparatów otrzymanych różnymi metodami mogą być powodowane zmiennymi stosunkami ilościowymi nierozpuszczalnych białek w otrzymanych koncentratkach. Białka preparatów aglomerowanych flokulantami zawierają prawdopodobnie więcej molekuł wysokocząsteczkowych, one bowiem efektywniej absorbują na swojej powierzchni koloidalne cząstki polielektrolitu. Wzajemne oddziaływanie białek soku z flokulantem uzależnione jest również od jego budowy i charakteru jonowego. I to może powodować zmiany zawartości aminokwasów w białku koncentratów wytrąconych różnymi metodami. Pod wpływem temperatury ulegają koagulacji również białka o mniejszym ciężarze cząsteczkowym obecne w soku roślinnym i dlatego ogólna zawartość białka w koncentracie otrzymanym termicznie była największa, natomiast wskaźnik EAAI – najmniejszy.

O przydatności koncentratów białkowych w żywieniu decyduje również wysoka zawartość w nich karotenów i ksantofili. Związki te mogą tworzyć kompleksy z białkami i dlatego zawartość karotenoidów w otrzymanych koncentratkach jest wyższa niż w zielonce (6).

Tab. 3. Zawartość aminokwasów w koncentratkach białkowych otrzymanych z soku liści tytoniu
Amino acid content in protein concentrates obtained from tobacco leaves juice

Aminokwas	W g/100 g białka							W % całkowitej ilości odzyskanych aminokwasów						
	Koncentraty						Liście tytoniu	Koncentraty						Liście tytoniu
	Termiczny	Kwasowy	LT-25	LT-27	M-22S	LT-24		Termiczny	Kwasowy	LT-25	LT-27	M-22S	LT-24	
Lys	3,96	1,56	3,96	4,86	5,54	5,07	4,81	6,18	1,91	5,51	7,24	6,84	5,95	5,92
Phe	4,23	3,75	4,97	4,44	5,92	5,73	5,28	6,60	4,59	6,91	6,61	7,31	6,72	6,50
Met	2,07	2,21	2,48	1,84	2,15	2,65	2,26	3,23	2,70	3,45	2,74	2,65	3,11	2,78
Cys	1,15	1,53	1,26	0,98	1,45	1,26	1,70	1,79	1,87	1,75	1,46	1,79	1,48	2,09
Thr	2,89	3,87	3,38	2,88	3,66	3,95	3,45	4,51	4,73	4,70	4,29	4,52	4,64	4,24
Leu	6,09	9,00	7,41	6,60	6,20	8,97	6,82	9,50	11,01	10,31	10,13	7,65	10,53	8,39
Ile	3,45	5,72	4,37	3,95	4,86	4,90	3,77	5,38	5,77	6,08	5,88	6,00	5,75	4,64
Val	4,37	5,28	5,14	4,64	5,64	5,73	5,20	7,13	6,46	7,15	6,91	6,96	6,72	6,40
Arg	3,02	2,39	2,67	2,56	3,43	4,01	3,17	4,71	2,92	3,71	3,81	4,23	4,71	3,90
Asp	7,36	10,54	8,85	7,74	8,83	9,50	11,39	11,48	12,89	12,31	11,53	10,90	11,15	14,01
Ser	3,70	6,14	4,97	3,60	4,41	5,11	6,57	5,77	7,51	6,91	5,36	5,44	6,70	8,08
Glu	8,83	12,63	4,97	9,61	12,31	11,22	11,83	13,77	15,45	13,87	14,17	15,20	13,17	14,55
Pro	5,54	7,29	3,31	4,35	6,11	5,81	6,39	8,64	8,92	4,50	6,48	7,54	6,82	7,86
Gly	3,57	5,17	4,74	4,25	5,17	5,14	4,34	5,57	6,32	6,59	6,33	6,38	6,03	5,34
Ala	3,89	5,66	4,41	4,63	5,33	5,57	4,31	6,07	6,92	6,13	6,90	6,58	6,54	5,30
EAAI	60,43	62,13	67,99	61,19	74,81	79,73	71,36							
Aminokwas ograniczający	Ile	Lys	Arg	Arg	Arg	Arg	Ile							
CS	45	22	42	40	54	63	49							

Tab. 4. Własności funkcjonalne koncentratów białkowych otrzymanych z soku liści tytoniu
Functional properties of protein concentrates obtained from tobacco leaves juices

Koncentraty	Absorbcja wody (%)	Absorbpcja tłuszczu (%)	Rozpuszczalność białka (%)							
			pH							
			2,5	3,5	4,5	5,5	6,5	7,5	8,5	9,5
Termiczny (85°C)	225	36	18,2	19,4	20,8	22,8	23,9	24,4	21,5	20,7
Kwasowy (pH = 3,5)	200	35	27,3	28,4	31,2	33,8	36,2	38,5	37,2	34,3
Flokulant LT-25	145	33	21,7	24,3	24,9	25,6	26,8	27,3	23,2	21,3
Flokulant LT-27	160	34	19,8	20,5	21,7	22,4	23,8	25,1	23,1	22,6
Flokulant LT-22S	200	34	22,4	23,1	24,5	26,3	27,2	28,3	24,2	22,1
Flokulant LT-24	135	36	25,3	25,7	26,7	27,0	27,5	28,1	25,6	21,1

Karotenoidy ulegają rozkładowi pod wpływem światła i temperatury. Zawartość ich maleje podczas suszenia preparatów (17). Otrzymane różnice w poziomie karotenów i ksantofili (tab. 1) pomiędzy poszczególnymi koncentratami mogą świadczyć o powstawaniu różnorodnych kompleksów białkowo-karotenoidowych, a ich poziom może być wielkością stałą, ponieważ oznaczeń dokonano w wysuszonym materiale. Najwyższa zawartość zarówno karotenów, jak i ksantofili w koncentracie termicznym może być spowodowana zahamowaniem enzymatycznego rozkładu karotenoidów w wyższych temperaturach. Wzajemna izomeryzacja karotenoidów była uzależniona od metody zastosowanej do wytrącania preparatu. Najmniejsze różnice w procentowym udziale karotenów w ogólnej ilości karotenoidów wystąpiły pomiędzy koncentratami otrzymanymi flokulantami kationowymi a anionowymi (tab. 1).

W procesach wdrażania koncentratów białkowych do celów żywieniowych obok własności odżywczych istotną rolę odgrywają ich właściwości funkcjonalne. Otrzymane preparaty wykazały zbliżoną, dość niską absorpcję tłuszczu (tab. 4). Natomiast absorpcja wody była wysoka i zróżnicowana dla koncentratów otrzymanych innymi metodami – najwyższa w koncentracie termicznym, najniższa w koncentraty wytrąconych flokulantami anionowymi. Rozpuszczalność białka w zależności od pH była na ogół dość niska – co jest cechą charakterystyczną dla koncentratów chloroplastowych. Najwyższe jej wartości (39% w pH=7,5) wykazał preparat otrzymany kwasem, najniższe zaś wytrącony termicznie.

Wyniki przeprowadzonych badań wskazują, że sposób otrzymywania preparatów białkowych wpływa na ich własności odżywcze i funkcjonalne.

WNIOSKI

1. Koncentrat otrzymany metodą termiczną charakteryzowała najwyższa zawartość białka ogółem, azotu białkowego i karotenoidów, natomiast białko tego preparatu zawierało najmniej aminokwasów egzogennych.
2. Najniższą wydajność procesu wytrącania otrzymano stosując flokulanty kationowe do koagulowania koncentratów, niemniej białko tych preparatów było najzasobniejsze w aminokwasy egzogenne.
3. Białko wszystkich otrzymanych preparatów było zasobne w aminokwasy siarkowe – metioninę i cysteinę.
4. Koncentrat wytrącony kwasem charakteryzowała wysoka absorpcja wody, a jego białko wykazało najlepszą rozpuszczalność.
5. Zastosowanie flokulantów do aglomerowania białek z soku liści tytoniu powoduje zwiększenie wzajemnej izomeryzacji karotenoidów.

Praca wpłynęła 14 04 1992

PIŚMIENNICTWO

1. Aleksander P., Block R. J.: A laboratory manual of analytical methods of protein chemistry. Vol. 2. The composition, structure and reactivity of proteins. Pergamon Press. New York 1960.
2. Baraniak B., Baraniak B.: Application of polyelectrolytes to fractionation of alfalfa juice protein. Die Nahrung – Food 31, 4, 341, 1987.

3. Baraniak B., Bubicz M.: Skład aminokwasowy i rozpuszczalność białka koncentratów otrzymanych z soku lucerny i kupkówki. *Roczn. Nauk Roln. s.A*, 108, 2, 9, 1988.
4. Betschart A.: Nitrogen solubility of alfalfa protein concentrate as influenced by various factors. *J. Food Sci.* 39, 1110, 1974.
5. Booth V.H.: Carotene, its determination in biological materials. Cambridge 1957.
6. Bubicz M., Baraniak B., Mącik-Barańska G., Koba B.: Zawartość karotenoidów w koncentratkach białkowych i wyłokach otrzymanych z zielonki życicy wielokwiatowej di- i tetraploidalnej. *Pam. Puł.* 72, 91, 1980.
7. Bubicz M., Jelinowska A.: Badanie jakości produktów uzyskiwanych przy ekstrakcji białka z roślin lucerny. cz. I. Skład aminokwasowy koncentratów białkowych z lucerny w zależności od odmiany, pokosu i fazy rozwojowej. *Roczn. Nauk Roln. s.A*, 105, 4, 41, 1983.
8. Coates J.H., Simmonds D.H.: Protein of wheat flour, extraction, fractionation and chromatography of butter soluble proteins of flour. *Cereal Chem.* 38, 3, 256, 1961.
9. Fantozzi P.: Tobacco protein utilization perspectives. Italian National Research Council, Special Project IPRA.
10. Fiorentini R., Pachetti G.: Attualita e prospettive del frazionamento umido dei foraggi. Istituto Industrie Agrarie, Università di Pisa, Febbraio 1978.
11. Hanczakowski P.: Skład i wartość pokarmowa koncentratów białkowych z zielonek. *Roczn. Nauk Roln. s.B*, 97, 85, 1975.
12. 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.* 10, 11, 644, 1965.
13. Moore S.: On the determination of cysteine and cysteic acid. *J. Biol. Chem.* 238, 235, 1963.
14. Nanda Ch., Ternouth J.: Evaluation of nutritive value of plant protein concentrates. *J. Sci. Food Agric.* 28, 1075, 1977.
15. Rutkowski A., Kozłowska H.: Preparaty żywnościowe z białka roślinnego. Wydawnictwo Naukowo-Techniczne, Warszawa 1981.
16. Staron T.: Le tabac combustible et prodigieux producteur de proteines comestibles. *L'Encyclopedie nutritionnelle de l'homme. Les Sciences Alimentaires.* 317, 1985.
17. Witt S., Spencer R.: Carotenoid storage stability in drum dried. PRO-XAN. *J. Agric. Food Chem.* 19, 162, 1971.

SUMMARY

The chemical composition and functional properties of protein concentrates from tobacco leaves juice prepared by various methods were compared. Concentrates were precipitated thermally (85°C), with acid (pH=3.5) and with anionic and cationic flocculants. The following were analysed: total protein, true protein and its fractionation, amino acid, carotene and xanthophyll content, water and fat absorption and solubility of protein. The concentrate obtained thermally had the highest amount of protein and carotenoids, but essential amino acid content and solubility of protein was lower than other concentrates. Concentrates from anionic flocculation had a higher yield of precipitation than acid coagulation. The chemical composition and functional properties depended on the method of obtaining the preparation.