

Barbara BARANIAK

Wpływ kwasowości roztworu na proces współstrącania się związków fenolowych i pigmentów z białkami cytoplazmatycznymi soku z lucerny

The Influence of Brown Juice Acidity on the Process of Co-Precipitation of Phenolic Compounds and Pigments with Cytoplasmatic Proteins of the Alfalfa Juice

Proces frakcjonowania soków wytłoczonych z wegetatywnych części zielonych roślin prowadzony jest w celu otrzymania dwóch frakcji białkowych — chloroplastowej mającej zastosowanie w żywieniu zwierząt monogastrycznych i cytoplazmatycznej, która może być wykorzystana w żywieniu człowieka. Z przesączu uzyskanego po usunięciu frakcji chloroplastów koncentraty cytoplazmatyczne otrzymywane są najczęściej poprzez wytrącanie termiczne lub kwasowe. Białka uzyskane tą drugą metodą mają korzystniejszy skład aminokwasowy (1, 5) i wyższą rozpuszczalność azotu białkowego (2, 5), jak również charakteryzują się jaśniejszą barwą. Barwa otrzymywanych koncentratów ze względu na walory estetyczne odgrywa niebagatelną rolę w procesie ich wdrażania w żywieniu ludzi. Przypuszcza się, że szarzielony kolor preparatów spowodowany jest współstrącaniem się wraz z białkami związków fenolowych (4).

Celem niniejszej pracy było ustalenie zależności pomiędzy kwasowością przesączu a ilością związków fenolowych i pigmentów współstrąconych wraz z koncentratami cytoplazmatycznymi.

MATERIAŁ I METODY

Sok z zielonki lucerny (odmiana Kleszczewska) otrzymano poprzez wstępne rozdrobnienie rośliny na prasie śrubowej i następne tłoczenie uzyskanej pulpy na prasie ślimakowej. Materiał włóknisty usunięto z soku przy użyciu sita o średnicy $0,15 \cdot 10^{-3} = 100$ mesh. Z tak otrzymanego soku wytrącono w temperaturze otoczenia przy $\text{pH} = 7,5$ frakcję chloroplastów anionowym flokulantem Magnafloc LT-25 w ilości $3 \cdot 10^{-3} \text{ kg/dm}^3$ soku. Po odwirowaniu koagulatu, z uzyskanego przesączu o barwie zielono-brązowej wytrącono koncentraty cytoplazmatyczne termicznie (358°K), oraz

kwasowo w zakresie pH = 4,0; 3,5; 3,0; 2,5; 2,0. Tak otrzymane koncentraty cytoplazmatyczne odwirowano, a następnie wysuszono w temperaturze 333°K, natomiast w odciekach oznaczono ogólną zawartość związków fenolowych metodą Folina (7), zawartość pigmentów mierząc absorbancję A_{430} próbek w ilości $1 \cdot 10^{-4} \text{ dm}^3$ (rozpuszczonych w $1 \cdot 10^{-2} \text{ dm}^3$ 0,2 M buforu Tris o pH = 7,5) (8), zawartość cukrów redukujących przy pomocy DNS (9), a ogólną zawartość białka metodą Kjeldahla na automatycznym aparacie Kjel-Foss. Wszystkie powyższe oznaczenia przeprowadzono również dla odcieku pozostającego po usunięciu białek chloroplastowych, z którego wytrącano białka cytoplazmatyczne.

WYNIKI I DYSKUSJA

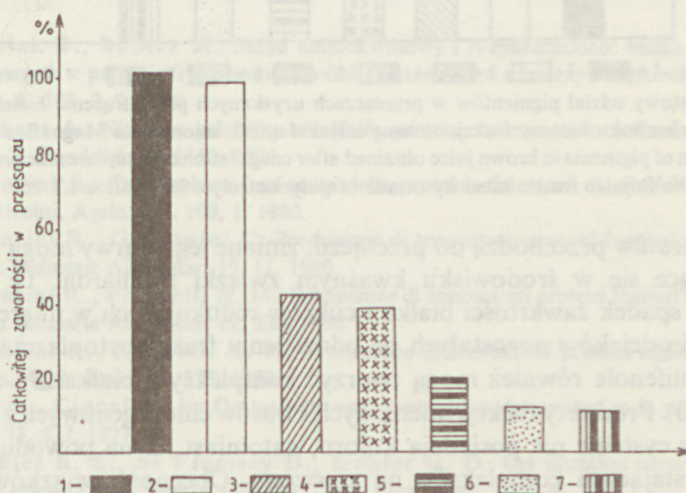
Prowadzenie procesu frakcjonowania soku z lucerny w temperaturze otoczenia poprzez zastosowanie do koagulacji frakcji chloroplastów polielektrolitów pozwala na uzyskanie w otrzymanym przesączu białek o niezmiennych właściwościach funkcjonalnych.

Tab. 1. Zawartość białka w koncentraty cytoplazmatycznych i odciekach otrzymanych po wytrąceniu białek chloro- i cytoplazmatycznych z soku lucerny oraz zawartość cukrów redukujących w tych odciekach
The content of protein in cytoplasmatic concentrations and effluents obtained after coagulation of chloro- and cytoplasmatic proteins from alfalfa juice, and the content of reducing sugars in these effluents

Koncentrat cytoplazmatyczny wytrącony:	Białko ogólne w % s.m.	Przesącz	
		Białko ogólne w % s.m.	Cukry redukujące w % s.m.
1. termicznie	49,5	27,2	7,5
2. kwasowo pH = 4,0	50,0	27,3	7,8
3. kwasowo pH = 3,5	49,9	27,0	6,6
4. kwasowo pH = 3,0	45,5	25,2	5,9
5. kwasowo pH = 2,5	34,9	24,4	4,1
6. kwasowo pH = 2,0	33,6	23,0	3,1

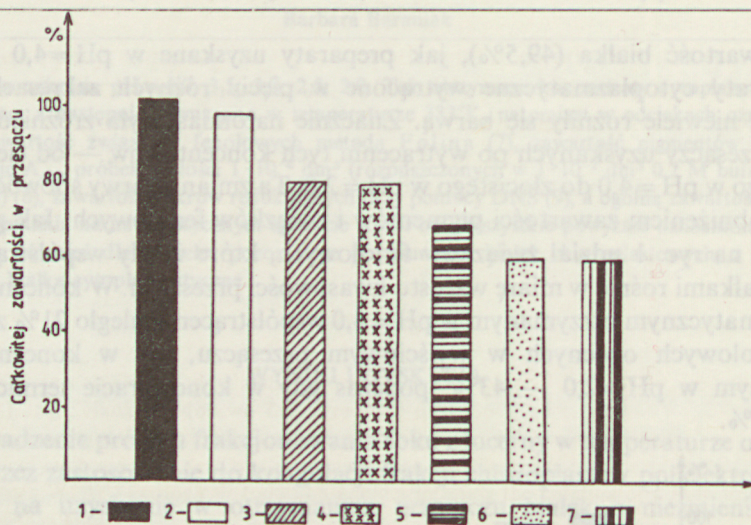
Różnice w składzie chemicznym wytrąconych koncentratów powodowane są głównie metodą ich otrzymywania (1, 3, 4, 6). Wyniki niniejszej pracy dowodzą, że nawet stosując ten sam czynnik koagulujący uzyskuje się preparaty, w których poziom poszczególnych składników jest zmienny. Ogólna zawartość białka w koncentraty cytoplazmatycznych maleje w miarę wzrostu kwasowości roztworu (tab. 1). Zmniejszanie pH o dwie jednostki powoduje zmniejszenie zawartości białka o 17%. Mniejsze różnice dają się zauważyć przy nieco wyższym pH odcieku (w zakresie od 3,0 do 4,0), a więc w pobliżu punktu izoelektrycznego większości białek. Podobną zależność ustalił w swoich badaniach Fiorentini (3), usuwając chloroplasty z soku lucerny anionowym flokulantem Superfloc A-150. Preparat otrzymany termicznie posiadał taką

samą zawartość białka (49,5%), jak preparaty uzyskane w $\text{pH}=4,0$ i $3,5$. Koncentraty cytoplazmatyczne wytrącone w pięciu różnych zakresach pH wizualnie niewiele różniły się barwą. Znacznie natomiast była zróżnicowana barwa przesączu uzyskanych po wytrąceniu tych koncentratów — od ciemnobrązowego w $\text{pH}=4,0$ do złocistego w $\text{pH}=2,0$. Ta zmiana barwy spowodowana była obniżeniem zawartości pigmentów i związków fenolowych. Jak przedstawiono na ryc. 1 udział związków fenolowych, które uległy współstrąceniu wraz z białkami rośnie w miarę wzrostu kwasowości przesączu. W koncentracie cytoplazmatycznym otrzymanym w $\text{pH}=4,0$ współstrąceniu uległo 21% związków fenolowych obecnych w wyjściowym przesączu, zaś w koncentracie wytrąconym w $\text{pH}=2,0$ — 43%, podczas gdy w koncentracie termicznym tylko 3,3%.



Ryc. 1. Procentowy udział związków fenolowych w przesączach uzyskanych po wytrąceniu białek cytoplazmatycznych z soku lucerny frakcjonowanym flokulantem anionowym Magnafloc LT-25
The proportion of phenolic compounds in brown juice obtained after coagulation of cytoplasmatic proteins from alfalfa juice fractionated by means of polyelectrolyte Magnafloc LT-25

Zmiana barwy przesączu spowodowana była również współstrącaniem się z koncentratami pigmentów, obecnych w przesączu (ryc. 2). I tak wraz z koncentratem otrzymanym w $\text{pH}=4,0$ wytrącone zostało 58,7% pigmentów, a z koncentratem otrzymanym w $\text{pH}=2,0$ — 98,2%. Knuckles i in. (8) oddzielając białka cytoplazmatyczne na żelu Sephadex G-50 i Bio-Gel P-10 (po uprzednim termicznym oddzieleniu frakcji chloroplastów) znaleźli w nich 15-20% pigmentów. Traktowanie lucerny przed procesem tłoczenia siarczynem sodu zmniejszyło do 1% ilość pigmentów obecnych w koncentraty cytoplazmatycznych. Należy przypuszczać, że obok naturalnych barwników roślinnych rozpuszczalnych w wodzie, takich jak flawonoidy, które w procesie otrzymywa-



Ryc. 2. Procentowy udział pigmentów w przesączach uzyskanych po wytrąceniu białek cytoplazmatycznych z soku lucerny frakcjonowanym flokulantem anionowym Magnafloc LT-25
 The proportion of pigments in brown juice obtained after coagulation of cytoplasmatic proteins from alfalfa juice fractionated by means of polyelectrolyte Magnafloc LT-25

nia koncentratów przechodzą do przesączu, zmianę jego barwy mogą powodować tworzące się w środowisku kwaśnym związki Maillarda. Tę hipotezę potwierdza spadek zawartości białka i cukrów redukujących w miarę wzrostu kwasowości odcieków pozostałych po oddzieleniu frakcji cytoplazmatycznych (tab. 1). Polifenole również mogą tworzyć kompleksy z białkami i z aminokwasami (10). Produkty reakcji utlenionych kwasów chlorogenowych z białkami bogatymi w cysteinę nie posiadają koloru, natomiast lizyna powoduje zabarwienie powstających kompleksów na czerwono. Obecność związków fenolowych w koncentraty cytoplazmatycznych zmniejsza ich wartość odżywczą, natomiast ich barwa ma raczej znaczenie estetyczne. Porównując dwie metody wytrącania koncentratów — termiczną i kwasową stwierdza się zazwyczaj, iż jaśniejsza barwa koncentratów otrzymywanych tym drugim sposobem jest prawdopodobnie spowodowana mniejszą w nich zawartością związków fenolowych. Wyniki przedstawionej pracy wskazywałyby na konieczność poszukiwania innej tego przyczyny — być może jest nią powstawanie kompleksów (różniących się barwą) pomiędzy polifenolami a białkami i aminokwasami w zależności od działającego czynnika — temperatury czy zmiany kwasowości.

WNIOSKI

1. Przesącz uzyskany po termicznym wydzieleniu białek cytoplazmatycznych był najzasobniejszy w związki fenolowe i pigmenty.

2. Wzrost kwasowości roztworu powodował zubożenie przesączu otrzymanego po odwirowaniu białek cytoplazmatycznych w związki fenolowe i pigmenty.

3. Barwa odcieków otrzymanych po usunięciu z soku lucerny frakcji białkowych chloro- i cytoplazmatycznych uzależniona jest od zawartości w nich związków fenolowych i pigmentów.

4. Zawartość białka w koncentratkach otrzymanych poprzez wytrącenie kwasem maleje wraz ze wzrostem pH roztworu.

Praca wpłynęła 21 III 1989

PIŚMIENNICTWO

1. Baraniak B., Bubicz M.: Skład aminokwasowy i rozpuszczalność białka koncentratów otrzymanych w procesie frakcjonowania flokulantami soku z lucerny i kupkówki. *Rocz. Nauk Rol.*, s. A, 108, 2, 9, 1989.
2. Betschart A.: Nitrogen solubility of alfalfa protein concentrate as influenced by various factors. *J. Food Sci.* 39, 1110, 1974.
3. Fiorentini R.: Coagulazione frazionata delle proteine del succo di erba medica mediante polielettroliti. *Agric. Ital.* 109, 1, 1980.
4. Fiorentini R., Galoppini C.: Produzione di concentrati proteici fogliari a destinazione umana. *Industrie Alimentari* 19, 11, 1980.
5. Fiorentini R., Pisanelli A. M.: Produzione di concentrati proteici fogliari a destinazione umana. *Industrie Alimentari* 19, 220, 1980.
6. Fiorentini R., Pisanelli A. M.: Produzione di concentrati proteici fogliari do giacinto d'acqua. *Agric. Ital.* 109, 375, 1980.
7. Folin O., Ciocalteu V.: On tyrosine and tryptophane determination in proteins. *J. Biol. Chem.* 73, 627, 1927.
8. Knuckles B. E., de Fremery D., Kohler G. O.: Gel filtration chromatography of protein extracts from lucerne (alfalfa). *J. Sci. Food Agric.* 33, 128, 1982.
9. Miller G. E.: Use of DNSa reagent for determination of reducing sugars. *Anal. Chem.* 31, 426, 1959.
10. Pierpoint W. S.: o-Quinones formed in plant extracts. Their reaction with bovine serum albumin. *Bioch. J.*, 112, 619, 1969.

SUMMARY

Co-precipitation of phenolic compounds and pigments during fractionation of alfalfa juice for chloro- and cytoplasmatic leaf protein concentrates was investigated. Chloroplasmatic concentrate was coagulated by means of polyelectrolyte Magnafloc LT-25 and from brown juice the cytoplasmatic protein fraction was coagulated by its acidification to pH 2,0-4,0 or by heating to 358°K. With the increase of brown juice acidity the high co-precipitation was observed. In the lowest acidity (pH = 2,0) the 43% of phenolic compounds and 89% of pigments were co-precipitated with protein fraction comparing to only 3,3% of phenols and 2,2% pigments, when protein fraction was coagulated by heating.