

Katedra i Zakład Nauki o Środkach Spożywczych i Higieny Żywności.
Wydział Farmaceutyczny. Akademia Medyczna w Lublinie
p.o. Kierownik: dr farm. Romuald Buliński

Romuald BULIŃSKI, Krystyna KUTULAS,
Elżbieta SZYDŁOWSKA

Skład aminokwasów hydrolizatów białkowych fasoli

Состав аминокислот белковых гидролизатов фасоли

Amino Acid Content of the Bean Protein Hydrolysates

Spośród wielu produktów spożywczych, dość poważne znaczenie konsumpcyjne posiadają w Polsce jadalne nasiona strączkowe, jak np. groch i fasola. Fasola należy do rodziny motylkowatych (*Papilionaceae*) i jest rośliną jednoroczną, uprawianą do konsumpcji zarówno w stanie świeżym, zielonym, jak też suchym (ziarno). Prócz różnych odmian hodowlanych fasoli białej, istnieje cały szereg odmian fasoli kolorowej, spożywanej w Polsce równie chętnie jak biała. W poprzedniej naszej pracy (1) przeprowadzono badania nad niektórymi składnikami chemicznymi wpływającymi na wartość odżywczą fasoli kolorowej. Stwierdzono, że fasola kolorowa jest bogatym źródłem białka, którego zawartość wahała się w granicach od 20,25% do 24,80%.

Istnieją obecnie duże tendencje zastępowania białka zwierzęcego, którego produkcja jest droga, białkiem roślinnym, łatwiej dostępnym i znacznie tańszym. Jakość białka oraz jego wartość biologiczna uwarunkowane są aminokwasami wchodzącymi w ich skład. Wśród aminokwasów ważną rolę odgrywa grupa aminokwasów egzogennych, które często biorą udział w procesach enzymatycznych (2, 3). Np. treonina uważana jest za składnik warunkujący właściwe wykorzystanie innych aminokwasów przez organizm, a walina niezbędna jest dla właściwego funkcjonowania systemu nerwowego. Metionina jest czynnikiem lipotropowym oraz bierze udział w procesach transmetylowania. Fenyloalanina jest produktem wyjściowym przy syntezie niektórych hormonów i barwników (4, 5, 6).

Zagadnienie składu aminokwasowego białek różnych produktów spożywczych pochodzenia roślinnego budzi szerokie zainteresowanie (7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16). Również prowadzone są badania w różnych krajach świata nad składem aminokwasowym białek grochu i fasoli (17, 18, 19, 20, 21, 22). Ponieważ na skład chemiczny produktów spożywczych pochodzenia roślinnego mają wpływ takie czynniki, jak warunki ekologiczne, nawożenie oraz dobór odmian hodowlanych, wydaje się celowe prowadzenie badań w skali kraju, a nawet regionu. Wyniki badań posłużyć mogą następnie do opracowania krajowych tabel wartości odżywczych produktów spożywczych. Celem naszej pracy było przeprowadzenie badań nad składem aminokwasowym hydrolizatów białkowych fasoli kolorowej.

CZĘŚĆ DOŚWIADCZALNA

Materiał badany

Badania przeprowadzono na fasoli pochodzącej z terenu województwa lubelskiego. Przebadano 24 odmiany hodowlane z gatunku *Phaseolus vulgaris* L. (fasola zwykła): 1) *Var. ellipticus* (Mart) Comes (nasiona elipsoidalne) — biała, jasnobrązowa, czarna, pstra brązowa, 2) *Var. oblongus* (Savi) Comes (nasiona walcowate) — biała, żółtozielona, jasnofioletowa, brązowa pstra, pstra czerwona, pstra fioletowa, pstra czarna, jasnobrązowa i 3) *Var. compressus* (D.C.) Comes (nasiona nerkowate) — biała, żółtobrunatna, brązowozielona, pstra biała, białoszara, jasnobrązowa, zielona, ciemnobrązowa, cielistą, zielonkawocielistą, brązowa czarno prążkowana.

Metodyka

Analizowane produkty rozdrabniano, odtłuszczano i oznaczano azot ogólny metodą Kjeldahla. Następnie poszczególne próbki hydrolizowano przygotowując odważkę zawierającą 1 g białka. Zastosowano hydrolizę kwaśną wg Niewiarowicza (23), tj. zalewano przygotowaną odważkę 60 ml stęż. HCl, 20 ml wody i 20 ml kwasu mrówkowego. Hydrolizę prowadzono przez 24 godz. pod chłodnicą zwrotną na łaźni wodnej w temp. 65°. Następnie kolbę z hydrolizatem podłączono do aparatury próżniowej i zawartość oddestylowano. Proces ten powtarzano dwukrotnie. Pozostałość w kolbie rozpuszczano w 20 ml 10% wodnego roztworu alkoholu izopropylowego i sączone. Przesącz uzupełniano do objętości 100 ml w kolbie miarowej. Celem przeprowadzenia rozdzielu chromatograficznego przygotowano zmodyfikowany przez Cramera (14) rozpuszczalnik Partridge'a, w skład którego wchodzi: alkohol n-butylový, kwas octowy lodowaty i woda redestylowana w stosunku 4:1:1. Hydrolizat w ilości 6 µl oraz roztwór wzorcowy zawierający poszczególne aminokwasy nakraplano na paski bibuły 4 cm × 50 cm i rozwijano chromatogram przez 72 godz. stosując chromatografię spływową. Umożliwiło to wyodrębnienie następujących aminokwasów: cystyny, lizyny, histydyny, argininy, treoniny i alaniny. Drugim zastosowanym układem był alkohol izoamylowy III rz., woda, kwas octowy lodowaty w stosunku 80:18:0,1. Prowadząc chromatografię w takich samych warunkach, jak przy układzie Cramera rozdzielono aminokwasy: tyrozyne, walinę, metioninę, fenyloalaninę. Rozdział pozostałych aminokwasów, a mianowicie: asparaginy, kwasu glutaminowego, izoleucyny, leucyny, seryny i glikokolu uzyskano na układzie fenolowym nasyconym wodą w stosunku 80:20. Chromatogram rozwijano przez 24 godz. Otrzymane chromatogramy wywoływano techniką zanurzeniową w 0,5% acetonowym roztworze ninhydryny z dodatkiem 2 ml stężonego kwasu octowego na 100 ml wywoływacza. Chromatogramy suszono w temp. 65° przez 20 min. Aminokwasy dają z ninhydryną fioletowopurpurowe zabarwienie o różnych odcieniach. Otrzymany kompleks D.Y.D.A. utrwalono przez zanurzenie w roztworze składającym się z 1 ml nasyconego roztworu azotanu miedziowego, 0,2 ml 10% kwasu azotowego i 100 ml acetonu. Po wysuszeniu na chromatogramach otrzymano różowoczerwone plamy kompleksu miedziowego, które po wycięciu i eluacji alkoholem metylowym użyto do ilościowego oznaczania aminokwasów. Ekstynkcję barwnych eluatów badano w fotokolorymetrze przy długości fali 530 nm. Jako ślepej próby użyto eluat z bibuły bez aminokwasów. Przygotowano również krzywe kalibracyjne dla poszczególnych aminokwasów, które posłużyły do obliczania ilościowej zawartości wszystkich badanych aminokwasów.

Oznaczanie tryptofanu

Ponieważ tryptofan podczas hydrolizy kwaśnej aminokwasów ulega rozkładowi, dlatego dla jego oznaczenia należy zastosować hydrolizę alkaliczną. Rozdrobnione i odtłuszczone próby fasoli, zawierające 1 g białka przenoszono do kolby, dodawano 1,4 g Ba(OH)₂ oraz 40 ml wody. Całość hydrolizowano przez 24 godz. ogrzewając do wrzenia na małym płomieniu pod chłodnicą zwrotną. Hydrolizat zakwaszano 2 n roztworem kwasu siarkowego do pH 6, uzupełniano wodą destylowaną do 100 ml i odsączano osad. Roztwór używano do oznaczania tryptofanu za pomocą chromatografii bibułowej.

Wyniki

Otrzymane wyniki zestawiono w tab. 1—4.

Tab. 1. Zawartość aminokwasów w g/100 g produktu
Amino acid content in g/100 g of product

Nazwa aminokwasu	Odmiany botaniczne fasoli (<i>Phaseolus vulgaris</i> L.)					
	<i>var. ellipticus</i> (Mart) Comes		<i>var. oblongus</i> (Savi) Comes		<i>var. compressus</i> (D.C.) Comes	
	Wahania od—do	Śre- dnio	Wahania od—do	Śre- dnio	Wahania od—do	Śre- dnio
1. Fenyloalanina	0,76—1,57	1,15	0,84—1,46	1,28	0,82—1,48	1,09
2. Izoleucyna	0,81—1,32	0,97	0,73—0,92	0,85	0,65—0,98	0,86
3. Leucyna	0,89—1,08	0,97	0,73—1,09	0,96	0,81—1,37	0,99
4. Lizyna	1,15—2,27	1,79	1,21—2,37	1,88	1,13—2,34	1,76
5. Treonina	0,71—1,09	0,87	0,81—1,15	0,92	0,73—1,37	0,92
6. Walina	1,23—1,56	1,43	1,23—1,56	1,43	1,14—1,71	1,51
7. Histydyna	0,37—0,66	0,54	0,54—0,78	0,64	0,55—0,69	0,60
8. Arginina	0,18—0,22	0,20	0,18—0,23	0,21	0,19—0,39	0,25
9. Metionina	0,15—0,36	0,26	0,11—0,33	0,24	0,16—0,39	0,28
10. Tryptofan	0,09—0,42	0,21	0,08—0,39	0,23	0,15—0,40	0,32
11. Cystyna	0,32—0,57	0,44	0,34—0,46	0,42	0,32—0,48	0,41
12. Asparagina	2,01—2,22	2,14	1,02—2,59	2,23	1,57—2,90	2,25
13. Kwas glutaminowy	1,74—2,02	1,89	1,38—2,18	1,80	1,42—2,24	1,83
14. Seryna	1,09—1,52	1,28	1,01—1,39	1,14	0,81—1,44	1,25
15. Glikokol	0,90—1,30	1,13	1,05—1,38	1,24	0,82—1,47	1,19
16. Alanina	0,71—1,01	0,89	0,85—1,15	0,98	0,55—1,04	1,89
17. Tyrozyna	0,81—0,99	0,91	0,86—1,24	1,04	0,84—1,37	1,09

OMÓWIENIE WYNIKÓW

W wyniku przeprowadzonych badań nad składem aminokwasowym hydrolizatów białkowych 24 odmian hodowlanych fasoli kolorowej stwierdzono występowanie w nich co najmniej 17 aminokwasów, w tym pełny skład aminokwasów egzogennych. Jak widać z wyników przedstawionych

Tab. 2. Porównanie składu aminokwasów egzogennych białka fasoli (*Phaseolus vulgaris* L., var. *elipticus* (Mart) Comes) do białka całego jaja kurzego
Comparison of the exogenic amino acid content in the protein of the bean (*Phaseolus vulgaris* L., var. *elipticus* (Mart) Comes) to that in the protein of a whole hen's egg

Lp.	Aminokwas	Procentowa zawartość aminokwasu w białku jaja kurzego w %	Var. <i>elipticus</i> (Mart) Comes	
			Zawartość aminokwasu w g/100 g białka	Procentowe odchylenie w odniesieniu do białka jaja kurzego
1	Fenylalanina	5,60	5,00	— 10,72
2	Izoleucyna	6,70	4,22	— 37,00
3	Leucyna	9,50	4,21	— 55,68
4	Lizyna	6,20	7,78	+ 25,32
5	Treonina	4,70	3,79	— 19,36
6	Walina	7,40	6,21	— 17,44
7	Histydyna	2,20	2,36	+ 8,09
8	Arginina	7,00	0,88	— 87,43
9	Metionina	3,70	1,14	— 69,19
10	Tryptofan	1,55	0,91	— 41,29

Tab. 3. Porównanie składu aminokwasów egzogennych białka fasoli (*Phaseolus vulgaris* L., var. *oblongus* (Savi) Comes) do białka całego jaja kurzego
Comparison of the exogenic amino acid content in the protein of the bean (*Phaseolus vulgaris* L., var. *oblongus* (Savi) Comes) to that in the protein of a whole hen's egg

Lp.	Aminokwas	Procentowa zawartość aminokwasu w białku jaja kurzego w %	Var. <i>oblongus</i> (Savi) Comes	
			Zawartość aminokwasu w g/100 g białka	Procentowe odchylenie w odniesieniu do białka jaja kurzego
1	Fenylalanina	5,60	5,66	+ 1,07
2	Izoleucyna	6,70	3,76	— 43,88
3	Leucyna	9,50	4,25	— 55,27
4	Lizyna	6,20	8,34	+ 34,50
5	Treonina	4,70	4,06	— 13,61
6	Walina	7,40	6,32	— 14,60
7	Histydyna	2,20	2,68	+ 22,00
8	Arginina	7,00	0,93	— 86,72
9	Metionina	3,70	1,08	71,00
10	Tryptofan	1,55	1,03	— 33,55

Tab. 4. Porównanie składu aminokwasów egzogennych białka fasoli (*Phaseolus vulgaris* L., var. *compressus* (D. C.) Comes) do białka całego jaja kurzego
Comparison of the exogenic amino acid content in the protein of the bean (*Phaseolus vulgaris* L., var. *compressus* (D. C.) Comes) to that in the protein of a whole hen's egg

Lp.	Aminokwas	Procentowa zawartość aminokwasu w białku jaja kurzego w % *)	Var. <i>compressus</i> (D. C.) Comes	
			Zawartość aminokwasu w g/100 g białka	Procentowe odchylenie w odniesieniu do białka jaja kurzego
1	Fenylalanina	5,60	4,89	— 3,75
2	Izoleucyna	6,70	3,83	— 42,87
3	Leucyna	9,50	4,42	— 53,48
4	Lizyna	6,20	7,86	+ 30,00
5	Treonina	4,70	4,12	— 12,34
6	Walina	7,40	6,72	— 9,09
7	Histydyna	2,20	2,87	+ 30,45
8	Arginina	7,00	1,12	— 85,43
9	Metionina	3,70	1,26	— 65,95
10	Tryptofan	1,55	1,45	— 6,45

*) Zawartość aminokwasów egzogennych w białku jaja kurzego (Nx 6,25) przyjęto jako średnią z tablic Harveya (24).

* Exogenic amino acid content in the protein of a hen's egg (Nx 6.25) was taken as the mean from Harvey's tables (24).

w tabelach, aminokwasem ograniczonym we wszystkich odmianach fasoli była arginina, której niedobór w porównaniu do białka całego jaja kurzego wynosi około 85%. Z innych aminokwasów egzogennych stwierdzono niedobór metioniny (ok. 70%), leucyny (ok. 55%), izoleucyny (ok. 40%), tryptofanu (ok. 40%), treoniny (od 12—19%) i waliny (od 10—17%). Zawartość fenyloalaniny kształtowała się na poziomie białka jaja kurzego, a zawartość lizyny i histydyny była nawet wyższa. Jest to bardzo korzystne jeśli się zważy dość poważny niedobór lizyny we wszystkich produktach zbożowych.

Porównując nasze wyniki z wynikami innych autorów, którzy zajmowali się tym zagadnieniem (7, 9, 17, 18, 19, 20, 21), stwierdza się różnice od kilku do kilkunastu procent w zawartości poszczególnych aminokwasów egzogennych. Należy sądzić, że różnice te wiążą się z wieloma czynnikami jak różnorodnością badanych odmian hodowlanych, ilością przeprowadzonych prób, warunkami glebowymi i klimatycznymi, sposobami nawożenia i wielu innymi. Również wahania w zawartości badanych aminokwasów, sięgające w wielu wypadkach ponad 100%

w obrębie obserwowanej odmiany wiążą się prawdopodobnie z różnorodnymi cechami osobniczymi hodowlanych odmian oraz warunkami ekologicznymi.

PIŚMIENNICTWO

1. Buliński R., Kutulas K., Przeciechowska I.: *Ann. Univ. M. Curie-Skłodowska, Lublin, sec. D*, **19**, 125—132, 1964.
2. Block R. L., Mitchel H. H.: *Nutr. Abstr. Rev.* **16**, 249—255, 1946.
3. Lantaume M. T., Girard P., Guerence J.: *Annal. Nutr.* **14**, 39—46, 1959.
4. Barrolier L., Heilmann J., Watzke E.: *Z. Physiol. Chem.* **304**, 21—30, 1956.
5. Shermann H.: *Chemistry of Food and Nutrition*. The Macmillan Company, New York 1946.
6. Szczygieł A.: *Podstawy fizjologii żywienia*. PZWL, Warszawa 1956.
7. Ghos Majumder S., Ganguli N. C.: *Food Research*, **21**, 477—480, 1956.
8. Szymczak J.: *Roczniki P.Z.H.* **18**, 215—224, 1967.
9. Muszkatowa B.: *Roczniki P.Z.H.* **14**, 249—258, 1963.
10. Młodecki H., Lasota W., Chocianowska I., Januszkiewicz M., Kubisa M.: *Roczniki P.Z.H.* **19**, 239—244, 1968.
11. Kanti Pada Chatterjee, Anima Ray: *Food Research*, **21**, 569—570, 1956.
12. Taranowa A. J.: *Biochimija* **16**, 239—241, 1951.
13. Simmonds D. H.: *Cereal Chem.* **39**, 445—450, 1962.
14. Janicki J., Kowalczyk J., Riewe J.: *Roczniki Tech. Chem. Żyw.* **13**, 5—15, 1967.
15. Kurzępa H., Bartnik J., Trzebska-Jeske I., Morkowska W.: *Roczniki P.Z.H.* **11**, 81—101, 1960.
16. Trzebska-Jeske I., Morkowska-Gluzińska W.: *Roczniki P.Z.H.* **14**, 153—166, 1963.
17. Bressani R., Elias L. G., Navarete D. A.: *J. Food Science* **26**, 525—528, 1961.
18. Bressani R., Mercucci E., Roblea C. E., Scrimshaw N. S.: *Food Research*, **19**, 263—268, 1954.
19. Galazi Peroni A.: *An. Fac. Quim. Farmac.* **16**, 159—163, 1964.
20. Benavides Manzoni V.: *An. Fac. Quim. Farmac.* **16**, 142—147, 1964.
21. Schmidt-Hebel H., Pennacchiotti I., Gallazi A., Benavides V., Valenzuela M. C.: *Z. Lebensm.-Untersuch.* **130**, 16—19, 1966.
22. Souci-Fachmann-Kraut: *Die Zusammensetzung der Lebensmittel*. Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft M.B.H. Stuttgart 1962.
23. Niewiarowicz A.: *Przemysł Spożywczy* **9**, 501—505, 1955.
24. Harvey D.: *Tables of the Amino Acids in Foods and Feedingstuffs*. Commonwealth Agricultural Bureaux Farnham Royal, Slough, Bucks, 1956.

РЕЗЮМЕ

Проведены исследования состава аминокислот в белковых гидролизатах 24 видов культур цветной фасоли (*Phaseolus vulgaris*), возделываемых в Люблинском воеводстве. В результате проведенных исследований обнаружено, что лимитирующей аминокислотой во всех видах фасоли является аргинин, недостаток которого в белке по сравнению с общим белком куриного яйца составляет около 85%. Обнаружен также недостаток таких экзогенных аминокислот как метионин, лейцин, треонин, валин и триптофан. Содержание фенилаланина в белке фасоли было на уровне близком к содержанию его в общем белке куриного яйца, а содержание лизина и гистидина выше, чем в белке яйца.

SUMMARY

The amino acid content of protein hydrolisates was analysed in 24 varieties of the cultivated colour bean (*Phaseolus vulgaris*) grown in the Lublin voivodeship.

The results of the investigations showed that arginine was the amino acid appearing in the smallest amount in all the examined beans, the protein deficiency of which amounted to about 85% in comparison to the protein of a whole hen's egg. The other exogenic amino acids having a deficit were methionine, leucine, isoleucine, treonine, valine and tryptophan. The content of phenyloalanine in the bean protein was on the level similar to that in the hen's egg and the values of lysine and histidine were even higher.

