
Instytut Chemii Podstawowych, Zakład Chemii Ogólnej, Akademia Medyczna w Lublinie
Kierownik: prof. dr hab. Stanisław Billiński

Jerzy ISKIERKO, Andrzej GÓRSKI

Porównawcza analiza białek pszenicy, żyta i dwóch odmian pszenżyta T₂₇₅ i T₂₉₄. V. Własności fizykochemiczne i biologiczne gliadyn i glutenin

Сравнительный анализ белков пшеницы, ржи и двух сортов Тритикале Т₂₇₅ и Т₂₉₄. V. Физико-химические и биологические свойства глиадинов и глютеинов

A Comparative Analysis of the Proteins of Wheat, Rye and Two Kinds of Triticale T₂₇₅ and T₂₉₄. V. Physical, Chemical and Biological Properties of Gliadins and Glutenins

WSTĘP

W poprzednich czterech częściach pracy dokonano badań porównawczych podfrakcji białka gliadyn pszenicy, żyta i dwóch odmian pszenżyta. Określono procentową zawartość białka całkowitego w analizowanych gliadynach i gluteninach (część I). W następnej części (II) przedstawiono rozdział białek gliadyn i glutenin metodą elektroforezy w żelu poliakrylamidowym. Uzyskano szereg podjednostek o identycznych i zróżnicowanych R_f . Określono ilościowy udział podjednostek w molekułe białka. Część III dotyczyła ilościowego określenia aminokwasów aromatycznych tryptofanu i tyrozyny metodą spektrofotometryczną, ponieważ aminokwasy te podczas hydrolizy kwaśnej ulegają całkowitemu lub częściowemu rozkładowi. Poza tym na podstawie analizy N-końcowych aminokwasów określono minimalną ilość łańcuchów polipeptydowych białek gliadyn badanych rodzajów zbóż. Część IV poświęcono całkowitej analizie składu aminokwasowego białek gliadyn i glutenin. Wykazano pewne różnice w ilościowej zawartości niektórych aminokwasów w zależności od gatunku zboża. Szczególnie znaczące różnice występowały w ilościowej zawartości lizyny.

W przedstawionej części V w oparciu o całkowitą analizę ilościową aminokwasów scharakteryzowano własności fizykochemiczne białek gliadyn i glutenin pszenicy, żyta i dwóch odmian pszenżyta. Określono ilość reszt aminokwasów obojętnych, kwaśnych, zasadowych oraz aromatycznych. Podano charakter bocznych łańcuchów molekuł białek oraz doko-

nano oceny ilości grup chemicznych: jonowych, niejonowych, kationowych i anionowych. Dokonano również oceny wartości paszowej badanych białek w oparciu o zawartość aminokwasów egzogennych.

MATERIAŁ I METODY

Materiał doświadczalny stanowiły białka gliadyn i glutenin żyta, pszenicy oraz dwóch odmian pszenżyta, które poddano całkowitej analizie aminokwasów metodą Spackmana, Moora i Steina (6) w automatycznym analizatorze firmy Mikrotechna Praha.

OMÓWIENIE WYNIKÓW I WNIOSKI

Ilościowy stosunek reszt aminokwasów kwaśnych do zasadowych wskazuje na charakter kwaśny białek gliadyn i glutenin. Na 118 reszt aminokwasów kwaśnych w gliadynach żyta występuje tylko 11 reszt aminokwasów zasadowych. Podobny stosunek ilości reszt aminokwasów kwaśnych do zasadowych występuje również w gliadynach pszenicy i dwóch odmian pszenżyta. W gluteninach żyta na 3635 reszt aminokwasów kwaśnych występuje tylko 336 reszt aminokwasów zasadowych. Zbliżone stosunki ilościowe stwierdzono w gluteninach pozostałych badanych gatunków zbóż. Stosunek reszt aminokwasów kwaśnych do zasadowych w gliadynach i gluteninach wyraża się w przybliżeniu jak 10 : 1 (tab. 1 i 2).

Tab. 1. Podział aminokwasów gliadyn żyta, pszenicy oraz dwóch odmian pszenżyta T_{275} i T_{294} w przeliczeniu na masę cząsteczkową 42 000

Distribution of gliadin amino acids in rye, wheat and two kinds of Triticale T_{275} and T_{294} calculated for $M=42,000$

Liczba reszt aminokwasów															
obojętnych				kwaśnych				zasadowych				aromatycznych			
Ż	P	T_{275}	T_{294}	Ż	P	T_{275}	T_{294}	Ż	P	T_{275}	T_{294}	Ż	P	T_{275}	T_{294}
180	179	176	174	118	132	121	118	11	11	13	12	35	32	27	24

Tab. 2. Podział aminokwasów glutenin żyta, pszenicy oraz dwóch odmian pszenżyta T_{275} i T_{294} w przeliczeniu na masę cząsteczkową 1 500 000

Distribution of glutenin amino acids in rye, wheat and two kinds of Triticale T_{275} and T_{294} calculated for $M=1,500,000$

Liczba reszt aminokwasów															
obojętnych				kwaśnych				zasadowych				aromatycznych			
Ż	P	T_{275}	T_{294}	Ż	P	T_{275}	T_{294}	Ż	P	T_{275}	T_{294}	Ż	P	T_{275}	T_{294}
5777	6197	6638	6965	3635	4832	4581	4581	336	442	553	535	1115	1017	1053	1029

Tab. 4. Rodniki występujące w gluteninach żyta, pszenicy oraz pszenżyta T₂₇₅ i T₂₉₄
Types of radicals found in glutenins in rye, wheat and Triticale T₂₇₅ and T₂₉₄

Nazwa rodnika	Charakter rodników											
	alifatyczne polarne niejonowe				alifatyczne polarne jonowe				alifatyczne niepolarne niejonowe			
	Z	P	T ₂₇₅	T ₂₉₄	Z	P	T ₂₇₅	T ₂₉₄	Z	P	T ₂₇₅	T ₂₉₄
Metylowy									303	367	407	399
α-metylo-n-propylowy									389	431	434	495
Izobutyłowy									678	812	733	826
Izopropylowy									387	429	508	543
Karboksymetyłowy					302	314	320	299				
Karboksyetyłowy					3333	4518	4261	4298				
Metylotioetyłowy	124	132	133	155								
Ω-guanidyno-n-propylowy					228	268	335	321				
Ω-amino-n-butyłowy					108	174	218	214				
Hydroksymetyłowy	579	637	668	646								
Hydroksyetyłowy	258	263	316	270								
Benzylowy												
Skatolilowy												
Para-hydroksybenzylowy												
Pirolidynowy									1324	1394	1577	1823

Boczne rodniki aminokwasów łańcuchów polipeptydowych białka gliadyn wykazują przewagę grup polarnych nad niepolarnymi. Na przykład w białkach gliadyn żyta na 191 grup o charakterze polarnym występowało 99 grup niepolarnych. Poza tym na 132 grupy aminowe przypadało tylko 11 grup kationowych. Biorąc pod uwagę stosunek tych grup należy stwierdzić, że gliadyny wszystkich analizowanych gatunków zbóż noszą ładunek ujemny. W gluteninach podobnie występuje przewaga grup polarnych nad niepolarnymi, a ich stosunek ilościowy jest w przybliżeniu jak 2 : 1. Około dziesięciokrotna przewaga grup anionowych nad kationowymi w gluteninach świadczy również o ich ładunku ujemnym (tab. 3 i 4).

Zarówno gliadyny jak i gluteniny występują w formie anionowej. Z porównawczych badań częściowej struktury pierwszorzędowej białek gliadyn i glutenin żyta, pszenicy i pszenżyta wynika, że białka te wykazują pewne różnice gatunkowe. Uwidacznia się to między innymi w różnej ilości reszt aminokwasów kwaśnych, to jest kwasu glutaminowego i asparaginowego, charakterystycznych dla białek roślinnych. Molekuła białka gliadyn żyta posiada analogiczną ilość aminokwasów z gliadynami pszenżyta T_{294} i bardzo zbliżoną do T_{275} . Różnią się natomiast gliadyny żyta ilością reszt tych aminokwasów od gliadyn pszenicy. Gliadyny pszenicy są bogatsze w aminokwasy kwaśne. Również i inni autorzy (2, 3, 4, 5) zwracają uwagę na mniejszą zawartość aminokwasów kwaśnych w białkach żyta w porównaniu z białkami pszenicy.

W gluteninach pszenicy występuje zbliżona ilość reszt aminokwasów kwaśnych do ilości reszt tych aminokwasów w obu odmianach pszenżyta T_{275} i T_{294} . Gluteniny żyta natomiast posiadają znacznie mniej aminokwasów kwaśnych, zatem gluteniny pszenicy i dwóch odmian pszenżyta mają charakter bardziej kwaśny niż gluteniny żyta. Być może, zmniejszona zawartość aminokwasów kwaśnych, a szczególnie kwasu glutaminowego w gluteninach żyta wiąże się z gorszymi własnościami glutenu, jak gorsza elastyczność i plastyczność.

Reasumując, wydaje się, że gliadyny pszenżyta T_{275} i T_{294} wykazują większe podobieństwo do gliadyn żyta niż do pszenicy. Natomiast gliadyny dwóch odmian pszenżyta bardziej zbliżone są do glutenin pszenicy niż do żyta. Prawdopodobnie DNA chromosomów żyta kontroluje głównie biosyntezę gliadyn w pszenżycie, a DNA chromosomów pszenicy kontroluje skład aminokwasowy białek glutenin w pszenżycie. Tarkowski i wsp. (7) przypuszczają, że skład aminokwasowy białek w pszenżycie jest kontrolowany przede wszystkim przez DNA chromosomów pszenicy. Pogląd ten odnosi się do wszystkich białek zbóż, a nie poszczególnych frakcji. Natomiast wnioski wypływające z przeprowadzonych

badan dotyczą konkretnych frakcji białkowych, tj. gliadyn i glutenin. Ich grupy chemiczne zestawiono w tab. 5 i 6.

Wartość paszową białek określa się dwiema metodami — chemiczną i biologiczną. Metoda chemiczna opiera się na ocenie ilościowej aminokwasów egzogennych w białku do ilości tych aminokwasów w białku jaja kurzego. Metoda biologiczna ocenia przyrost ciężaru myszy pobierającej daną paszę w porównaniu do przyrostu ciężaru przy skarmianiu białka jaja kurzego, którego współczynnik PER (protein officency ratio) wynosi 3,5.

Opierając się na metodzie chemicznej w badaniach własnych wykazano, że gluteniny pszenżyta T₂₇₅ i T₂₉₄ są bogatsze w aminokwasy egzogenne niż gluteniny żyta czy pszenicy (tab. 7). W gliadynach zawartość aminokwasów egzogennych jest w przybliżeniu jednakowa dla wszystkich analizowanych gatunków zbóż.

Tarkowski i Wójcik (7) wykazali, że wskaźnik aminokwasów egzogennych w różnych formach pszenżyta w porównaniu do aminokwasów egzogennych jaja kurzego wahał się w granicach 59,15—62,66. Jest wyrażany pogląd, że istnieje możliwość polepszenia własności białek pszenżyta w kierunku zwiększenia w nich zawartości aminokwasów egzogennych, a przede wszystkim lizyny (8).

Tab. 5. Charakter grup chemicznych białka gliadyn
Physico-chemical properties of the chemical groups in gliadin proteins

Rodzaje grup		Liczba grup w gliadynach			
		Z	P	T ₂₇₅	T ₂₉₄
Jonowe	kationowe	11	11	13	12
	anionowe	132	146	130	126
Niejonowe		147	147	149	149
Polarne		191	203	188	185
Niepolarne		99	101	104	102

Tab. 6. Charakter grup chemicznych białka glutenin
Physico-chemical properties of the chemical groups in glutenin proteins

Rodzaje grup		Liczba grup w gluteninach			
		Z	P	T ₂₇₅	T ₂₉₄
Jonowe	kationowe	336	442	553	535
	anionowe	4147	5269	4940	5007
Niejonowe		4645	5048	5470	5802
Polarne		6047	7323	7304	7258
Niepolarne		3081	3433	3659	4085

Tab. 7. Zawartość aminokwasów egzogennych w białkach glutenu żyta, pszenicy i dwóch odmian pszenżyta

Contents of exogenous amino acids of protein gluten in rye, wheat and two kinds of Triticale

Amino- kwas	Gramów aminokwasu na 100 g białka glutenin				Gramów aminokwasu na 100 g białka gliadyn			
	Ż	P	T ₂₇₅	T ₂₉₄	Ż	P	T ₂₇₅	T ₂₉₄
Liz	1,05	1,70	2,12	2,08	1,06	0,82	1,01	0,97
Met	1,50	1,59	1,61	1,82	1,64	1,56	1,47	2,34
Treo	2,05	2,09	2,51	2,14	2,02	1,96	2,06	2,18
Wal	3,02	3,55	3,97	4,24	2,50	2,13	2,33	1,95
Fen	4,78	5,52	6,60	6,10	6,27	5,68	6,14	5,66
Leu	5,93	7,10	6,41	7,22	6,05	6,62	6,13	5,77
Ileu	3,40	3,77	3,80	4,33	2,63	2,83	2,84	2,57
Try *	2,31	1,00	1,30	1,30	2,30	2,00	1,20	1,00
Razem	24,04	28,12	28,32	29,24	24,47	23,60	23,18	22,44

* Tryptofan oznaczano metodą spektrofotometryczną według Beavana i Holidaya (1).

* Tryptophan was determined by spectrophotometric method of Beavan and Holiday (1).

PIŚMIENNICTWO

1. Bevan G. H., Holiday E. R.: Advances in Prot. Chem. 7, 319—382, 1952.
2. Bietz J. A., Rothfus J. A.: Cereal Chem. 48, 677—690, 1971.
3. Dexter J. E., Dronzek B. L.: Can. J. Plant. Sci. 55, 537—541, 1975.
4. Dronzek B. L., Kaltiskes P. J.: Can. J. Plant. Sci. 50, 389—392, 1970.
5. Huebner R. F., Donaldson G. L., Wall J. S.: Cereal Chem. 51, 240—244, 1974.
6. Spackman D. H., Moore S., Stein W. H.: Anal. Chem. 30, 1190—1205, 1958.
7. Tarkowski C., Wójcik S.: Genet. Pol. 15, 393—405, 1974.
8. Zillynsky F., Borlaug N. E.: Crop. Res. Bull. 17, 1, 1971.

Otrzymano 7 VI 1979.

РЕЗЮМЕ

В боковых радикалах аминокислот определялось количество полярных, неполярных, аминных, катионных групп. Обозначалось количество остатков кислых, щелочных, нейтральных и ароматических аминокислот относящихся на одну молекулу белка глиадинов и глютеинов, анализированных сортов хлеба. В работе показано, что глютеины пшенижа более богатые в экзогенные аминокислоты от глютеинов ржи и пшеницы. Глиадины всех исследованных сортов хлеба содержат приблизительно одинаковое количество экзогенных аминокислот.

SUMMARY

In side radicals of amino acids, the amounts of polar, non-polar, anion and cation groups were determined. The amounts of acidic, basic, neutral and aromatic amino acid radicals per one molecule of gliadin and glutenin proteins, of the analysed varieties of corn, were determined. It was found out that the glutenins of Triticale were richer in exogenous amino acids than the glutenins of rye and wheat. However, gliadins of all the examined corn contained approximate amounts of exogenous amino acids.