

ZMIANA ZAWARTOŚCI BIAŁKA SUROWEGO I TŁUSZCZU W OKRYWIE NASIENNEJ BOBU PODCZAS KIELKOWANIA

Bożena Gładyszewska

Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie

Streszczenie. W pracy przedstawiono wyniki badań zmienności zawartości białka i tłuszczu w okrywach nasion bobu odmiany *Hangdown Biały SNF*, w trakcie procesu kiełkowania przebiegającego w temperaturze $20^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$. Pierwsze próbki do analizy pobrano następnego dnia od chwili rozpoczęcia eksperymentu, następne pobierano co 24 h przez 5 kolejnych dni. Badania wykazały zwiększenie zawartości tłuszczu (0,94 g/100 g s.m. – 1,35 g/100 g s.m.) wraz ze wzrostem intensywności kiełkowania w okrywach w całym przedziale czasowym i obniżenie zawartości białka w okrywach (4,37 g/100 g s.m. – 3,88 g/100 g s.m.) wraz z pojawianiem się coraz większej liczby kiełków. Badania zakończono po 144 h, gdy większość nasion zakończyła już kiełkowanie. W tym czasie zauważono największy spadek zawartości białka (4,39 g/100 g s.m. – 3,88 g/100 g s.m.).

Słowa kluczowe: okrywa, nasiona bobu, kiełkowanie, białko, tłuszcz

WSTĘP

Rośliny strączkowe są źródłem białka o dość wysokiej wartości odżywczej. Groch, fasola, bób i soczewica zawierają ponad 20%, zaś soja nawet 35–40% białka. Nasiona roślin strączkowych oprócz białka zawierają dużo węglowodanów oraz są źródłem tłuszczu o dużej zawartości niezbędnych nienasyconych kwasów tłuszczowych. Obecność ich sprawia, że lekarze zalecają te nasiona do spożycia w diecie przeciwmiażdżycowej [Harper i Jacobson 2002].

Tłuszcz zawarty w nasionach roślin strączkowych charakteryzuje się przewagą kwasów wielonienasyconych, głównie linolowego i linolenowego. Ich obecność decyduje o wysokiej wartości żywieniowej tłuszczu wszystkich nasion strączkowych [Ziemlański i Budzyńska-Topolowska 1991].

Spośród różnych substancji niektóre występują we wszystkich tkankach i komórkach nasion. Pewne związki organiczne występują w znacznych ilościach, większość

jednak może być wykryta jedynie za pomocą czułych metod analitycznych. Pojawianie się i zmiana ilości poszczególnych substancji w komórkach jest wynikiem zachodzących w nich procesów metabolicznych i świadczących o życiu danej tkanki [Cone 1982].

Jakość nasion i możliwość szczegółowej oceny procesu ich kiełkowania mają ogromne znaczenie dla rolnictwa, a także dla tych gałęzi przemysłu, które z rolnictwem są blisko związane. Nasiona służą zarówno do produkcji roślin gruntowych, jak i szklarniowych. Wymagają zaangażowania w tę produkcję znacznych środków finansowych i pracy. W tych warunkach kontrola kiełkowania nasion staje się niezbędna – zbyt niska szybkość czy zdolność kiełkowania mogą prowadzić do znacznych strat finansowych [Grzesiuk i Kulka 1981].

Uważa się, że proces kiełkowania, szczególnie pierwszy etap pobierania wody i pęcznienia nasienia, a także procesy biochemiczne w trakcie oddychania nasienia są źródłem energii pojawiającej się wcześniej po rozpoczęciu pęcznienia nasion. Substratami oddychania są nagromadzone w nich substancje zapasowe, m.in. tłuszcze i białka występujące w różnych częściach nasienia [Bevity i Black 1982].

Zagadnienia biologii wzrostu i rozwoju nasion oraz kiełkowania w określonych warunkach środowiskowych są ściśle ze sobą powiązane i regulowane na poziomie molekularnym, subkomórkowym i komórkowym oraz na poziomie całego nasienia. W nasionach obserwuje się stopniowe zmniejszanie natężenia procesów fizjologicznych podczas dojrzewania, podtrzymywanie życia utajonego w okresie ich spoczynku i szybkiego wznowienia procesów fizjologicznych podczas pęcznienia i kiełkowania.

Kiełkowanie, podobnie jak każdy wzrost jest procesem złożonym z cząstkowych procesów fizjologicznych, którego końcowym efektem są odpowiednie zmiany morfologiczne obserwowalne bez użycia mikroskopu [Bewley 1997].

Żywe nasiona zachowując żywotność, mogą pozostawać w stanie spoczynku przez dłuższy czas. Okres spoczynku (ambiozy) uzależniony jest od właściwości genetycznych i warunków środowiskowych. Suche nasiona w stanie spoczynku najczęściej są odporne na czynniki zewnętrzne, pomimo biologicznego przygotowania do dalszego rozwoju, który jest możliwy w każdej chwili, jeżeli tylko nasiona mają zapewniony dostęp do wody, odpowiednią temperaturę, obecność tlenu, a w przypadku niektórych gatunków nasion również i światła [Grzesiuk i Kulka 1981]. Uważa się [Gunn i in. 1972], że w kiełkowaniu nasion możemy wyróżnić trzy etapy, których zakończeniem jest wytworzenie przez nasienie kiełka. Pierwszy etap związany jest z hydrolitycznym rozpadem substancji zapasowych (katabolizm) i procesem syntezy (anabolizm) w zarodku, który rozpoczyna swój wzrost poprzez powiększenie rozmiarów komórek (*faza fizyczna*). W drugim etapie obserwujemy rozpad związków zapasowych i transport ich produktów do tkanek rosnących (*faza biochemiczna*), zaś w trzecim następuje malejący rozpad związków zapasowych w organach zapasowych oraz wzrastający anabolizm w tkankach rosnących. Następuje wzrost zarodka, który po przebicciu okryw nasiennych staje się kiełkiem, a następnie siewką (*faza fizjologiczna*).

W ścianach komórkowych nasion, w tym okryw, stwierdza się obecność białek, które biorą udział m.in. w regulowaniu ich rozciągliwości, zaś ich modyfikacja jest możliwa dzięki odkładaniu się na ich powierzchni różnego typu związków organicznych, w skład których wchodzi również tłuszcze. Spolimeryzowane kwasy tłuszczowe po-

wlekają powierzchnie komórek zmieniając ich wrażliwość na działanie wody [Kopcewicz i in. 2002].

Celem pracy było zbadanie, czy w trakcie kiełkowania nasion bobu następuje także zmiana zawartości białka surowego oraz tłuszczu w łupinie nasiennej bobu.

MATERIAŁY I METODY

Do badań wybrano okrywy bobu *Vicia faba L.* odmiany *Hangdown Biały SNF*. W doświadczeniu obserwowano 1000 nasion bobu, które wysiano w kuwetach na kilku warstwach bibuły filtracyjnej, zapewniając odpowiednie warunki kiełkowania poprzez stałe dozowanie dejonizowanej wody [Polska Norma PN-96/R-65950]. Nasiona bobu ze względu na duże rozmiary i niebezpieczeństwo zbyt szybkiego wysychania ich górnej warstwy przykryto dodatkowo taką samą warstwą nawadnianej bibuły. Zastosowano wodę dejonizowaną, aby uniknąć dostarczania do kiełkujących nasion makro- i mikroelementów, które mogłyby wpływać na zmianę zawartości badanych składników. Bób wraz z bibułą sterylizowano w temperaturze 70°C przez 30 min, a następnie schładzano do temperatury pokojowej.

Nasiona kiełkowały bez dostępu światła w komorze termostatycznej utrzymującej temperaturę 20°C ± 1°C. Na podstawie 300 nasion obliczono podstawowe parametry charakteryzujące ich żywotność: zdolność kiełkowania Z_k oraz czas kiełkowania jednego nasienia, tzw. czas Piepera t_p . Z pozostałych nasion pobierano materiał do badań analitycznych na zawartość białka i tłuszczu w nawadnianej naturalnie okrywy wodą dejonizowaną [Gładyszewska 2007].

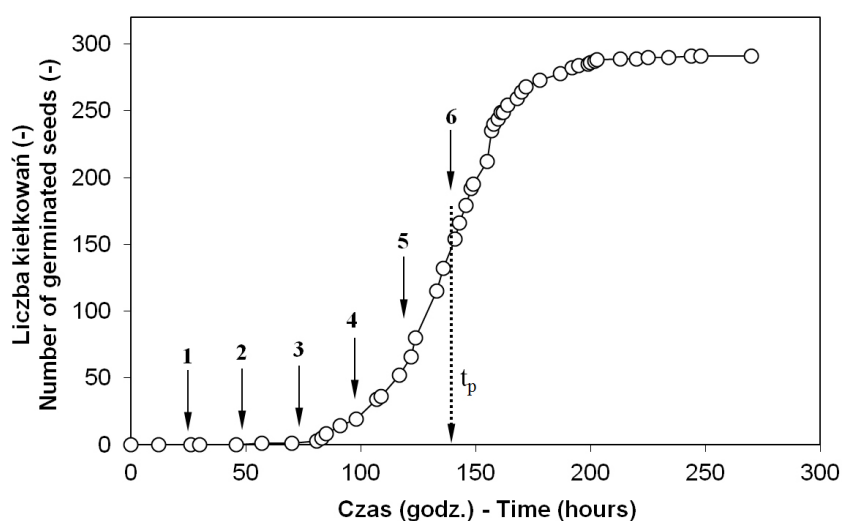
Próbki pobierano z okryw wybranych 50 nasion, które najszybciej pęczniały i odznaczały się zbliżonym wyglądem w kolejnych dniach badań. Analizy chemiczne zakończono w 144 h (6 dzień) kiełkowania, wówczas do analiz pobrano już okrywy z nasion charakteryzujących się min. 10 mm. kiełkiem. Badania zakończono, ponieważ wszystkie wizualne etapy procesu kiełkowania nasion zostały uwzględnione w poprzednich dniach. Powyżej 144 h procesu nie można było już pobrać okrywy ze względu na zniszczenie jej struktury przez przebijający się kiełek.

Zawartość białka oznaczono metodą Kjeldahla w aparacie Kjell-Foss Automatic (A/S Foss Electric, Dania) wg. AOAC 976.05 zaś zawartość tłuszczu oznaczono metodą ekstrakcyjno-wagową w aparacie Soxtec HT-6 w Centralnym Laboratorium Analitycznym Uniwersytetu Przyrodniczego w Lublinie.

Badania analityczne przeprowadzono równoległe z badaniami zdolności kiełkowania w kolejnych dniach eksperymentu. Wybierano losowo 50 nasion z grupy 700 poddanych kiełkowaniu, zdejmowano okrywę i suszono przez 3 h w piecu termostatycznym aż do uzyskania suchej substancji. Następnie zalewano wysuszony materiał ciekłym azotem o temperaturze -186°C i rozcierano w moździerzu na drobny pył. Każdorazowo odważano 3 próby suchego proszku po 0,5 g na wadze analitycznej WAS 160/C/2 z dokładnością do ±0,01 g. Tak przygotowane próbki umieszczano następnie w specjalnie oznakowanych 1,5 ml ependorffach. Z każdej próby wykonano po 3 pomiary.

WYNIKI

Na rysunku 1. przedstawiono krzywą kiełkowania sporządzoną dla badanych nasion bobu. Czas Piepera t_p [Pieper i Eggebrecht 1952] obliczony na podstawie uzyskanych liczb kiełkowań wyniósł $t_p = 140,8$ h i został również zaznaczony na rys. 1 wraz z oznaczeniem momentu przeprowadzania analiz zawartości białka i tłuszczu. Ostateczna zdolność kiełkowania wyniosła $Z_k = 90,9\%$.

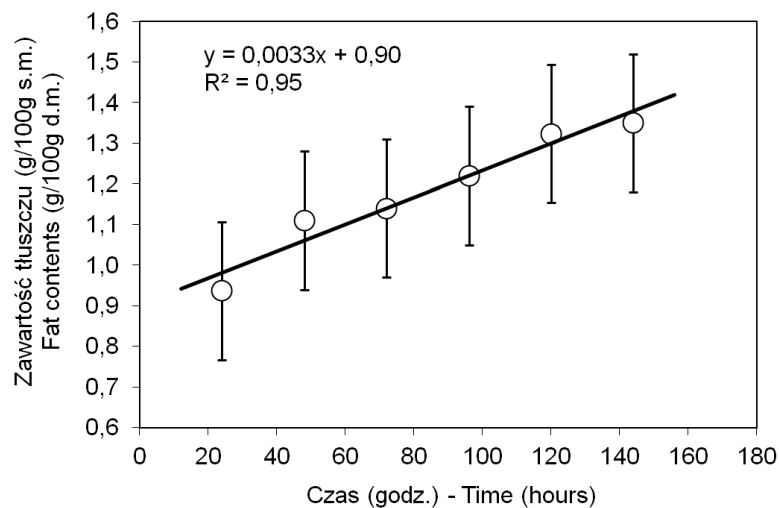


Rys. 1. Krzywa kiełkowania nasion bobu w temperaturze 20°C. Strzałki wskazują czas pobierania okryw nasiennych bobu do badań analitycznych; t_p – czas Piepera

Fig. 1. Germination curve of broad bean seeds at 20°C temperature. Arrows indicate time when seed cover samples were taken for analytical tests; t_p – Pieper's time factor

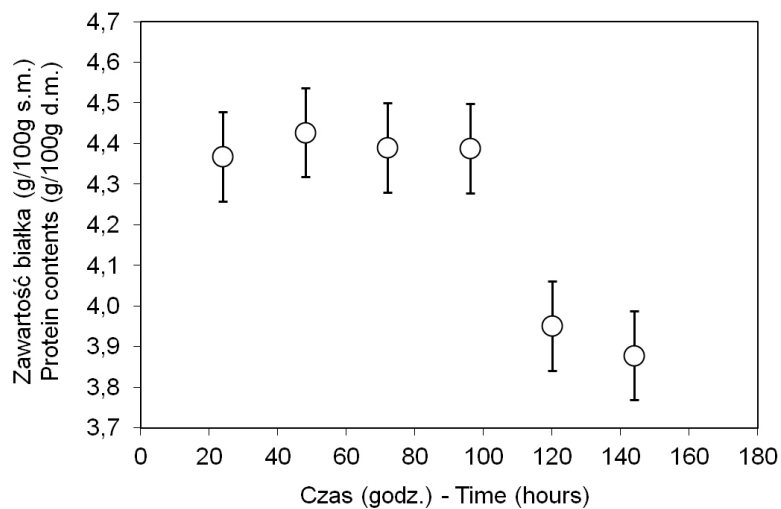
Na rysunku 2 przedstawiono zawartość tłuszczu oznaczoną metodą ekstrakcyjno-wagową dla suchych okryw nasion bobu nawilżanego naturalnie w trakcie procesu kiełkowania. Pierwsze oznaczenie wykonano dla próbek nasion w 24 h od ułożeniu bobu w kuwetach, na stale nawilżanej bibule filtracyjnej. Średnia zawartość tłuszczu wyznaczona dla 3 powtórzeń wyniosła 0,94 g/100 g s.m.. Kolejne dni badań wskazywały na systematyczne zwiększanie się zawartości tłuszczu w okrywkach kiełkujących nasion. W tabeli 1 przedstawiono wartości liczbowe dla kolejnych dni oraz ich wartość średnią.

Zawartość białka surowego w próbkach pobieranych z nasion w tych samych odstępach czasu, oznaczana metodą Kjeldahla, w pierwszych czterech dniach od chwili rozpoczęcia procesu utrzymywała się na stałym poziomie 4,37 g/100 g s.m. – 4,39 g/100 g s.m. (patrz rys. 3). Największą szybkość spadku zawartości białka zaobserwowano między 96 a 120 h, gdy zawartość białka nagle obniżyła się z 4,39 g/100 g s.m. do 3,95 g/100 g s.m. Zbliżone wartości uzyskano dla ostatniego pomiaru po 120 h kiełkowania, podczas gdy



Rys. 2. Zawartość tłuszczu w okrywach nasiennych bobu w trakcie kiełkowania. Średnie odchylenie od wartości średniej z każdych trzech prób wskazują słupki błędów

Fig. 2. Fat contents for broad bean seed covers during the germination process. Error bars indicate the average difference between results and the average calculated for three samples



Rys. 3. Zawartość białka w okrywach nasiennych bobu w trakcie kiełkowania. Średnie odchylenie od wartości średniej z każdych trzech prób zaznaczono jako słupki błędów

Fig. 3. Protein content for broad bean seed covers during the germination process. Error bars indicate the average difference between results and the average calculated for three samples

Tabela 1. Zawartość procentowa tłuszczu (g/100 g s.m.) i białka (g/100 g s.m.) oznaczona w trzech próbach, w okrywkach nasiennych bobu podczas kiełkowania w temperaturze 20°C

Table 1. Fat (g/100 g d.m.) and protein contents (g/100 g d.m.) determined from three samples of broad bean covers during germination at 20°C temperature

Czas (h) Time (hours)	Zawartość tłuszczu – Fat content				Zawartość białka – Protein content			
	I próba 1 st sample	II próba 2 nd sample	III próba 3 rd sample	średnia average	I próba 1 st sample	II próba 2 nd sample	III próba 3 rd sample	średnia average
24	1,00	0,89	0,92	0,94	4,38	4,42	4,31	4,37
48	1,15	0,98	1,20	1,11	4,58	4,53	4,17	4,43
72	1,18	1,34	0,90	1,14	4,31	4,53	4,33	4,39
96	1,44	1,20	1,02	1,22	4,42	4,33	4,42	4,39
120	1,44	1,40	1,13	1,32	3,98	4,03	3,84	3,95
144	1,70	1,15	1,20	1,35	3,98	3,68	3,98	3,88

czas kiełkowania jednego nasienia, tzw. czas Piepera, wynosił 140,8 h. Tym samym zmniejszenie zawartości białka jest skorelowane z najwyższą intensywnością kiełkowania.

WNIOSKI

1. Na podstawie badania zawartości tłuszczu metodą ekstrakcyjno-wagową w okrywkach nasion bobu podczas kiełkowania nieznacznie rosła w całym przedziale czasowym tego procesu. Zawartość po 24 h od wysiania wynosiła 0,94 g/100 g s.m., zaś po 144 h, gdy większość nasion odznaczała się już 10 mm kiełkiem, zawartość tłuszczu wzrosła do 1,35 g/100 g s.m.

2. Na podstawie badania białka surowego metodą Kjeldahla jego zawartość w próbkach zmalała od 4,37 g/100 g s.m. w 24 h kiełkowania do 3,88 g/100 g s.m. w 144 h kiełkowania.

3. Największy spadek zawartości białka zaobserwowano w piątym dniu kiełkowania (120 h). W tym czasie zaobserwowano również najintensywniejsze pojawianie się kiełków u większości nasion.

4. Od 96 h kiełkowania zawartość białka zdecydowanie zmalała, co może świadczyć o wyczerpywaniu się substancji zapasowych w nasieniu powodujących jego rozwój i powstawanie kielka.

PIŚMIENNICTWO

- Bewley J.D., 1997. Seed germination and dormancy. *Plant Cell*, 9, 1055–1066.
- Bewley J.D., Black M., 1982. Physiology and biochemistry of seed in relation to germination. Vol. 1, 2. Springer Verlag, Berlin, Heidelberg – New York.
- Cone W.J., 1982. The Escape From Photocontrol of Seed Germination of *Arabidopsis Thaliana*. *Arabid. Inf. Serv.*, (19), 35.
- Gładyszewska B., 2007. Metoda badania wybranych mechanicznych właściwości cienkowarstwowych materiałów biologicznych. *Rozpr. Nauk. Akademii Rolniczej w Lublinie*, 325, 87.
- Gunn C.R., Singh H., Johri B.M., Bhatnagar S.P., Fahn A., Werker E., Berlyn G.P., Pollock B.M., Roos E.E., ed. Kozłowski, 1972. Seed biology. Vol. I. Importance, development, and germination. London.
- Grzebiuk S., Kulka K., 1981. Fizjologia i biochemia nasion. Wyd. PWRiL, Warszawa.
- Harper Ch.R., Jacobson T.A., 2002. Tłuszcze życia. Rola kwasów tłuszczowych omega-3 w zapobieganiu chorobie niedokrwiennej serca. *JAMA-PL*, 4, 149–156.
- Kopcewicz J., Lewak S., Gabryś H., 2002. Fizjologia roślin. Wyd. Nauk. PWN, Warszawa.
- Pieper G., Eggebrecht H., 1952. *Das Saatgut*, Wyd. II, Berlin.
- Polska Norma PN-96/R-65950. Materiał siewny. Metody badania nasion.
- Ziemiański Ś., Budzyńska-Topolowska J., 1991. Tłuszcze pożywienia i lipidy ustrojowe. Wyd. Nauk. PWN, Warszawa.

THE CHANGE OF CRUDE PROTEIN AND FAT CONTENT IN THE BROAD BEANS SEED COVERS DURING GERMINATION PROCESS

Abstract. The paper presents the results of studies on the variation in protein and fat contents in broad bean seed covers of Hangdown White SNF variety, during the germination process at temperature of $20^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$. The first samples were collected for analysis the next day from the beginning of the experiment while the others were taken every 24 hours during 5 consecutive days. The experiment showed an increase of fat contents in seed covers (0.94–1.35 g/100 g d.m.) with increasing germination intensity within the entire period of time and simultaneously reduction of the protein contents (4.5–3.8 g/100 g d.m.) along with the germ growth. The experiment was terminated after 144 hours when the majority of seed had germinated. During this time, the greatest decrease of protein contents (4.39–3.88 g/100 g d.m.) was observed.

Key words: broad bean seeds, germination, crude protein, fat

Zaakceptowano do druku – Accepted for print: 28.06.2012