

## Krystian NOWAK, Ewa SPYCHAJ-FABISIAK, Bożena BARCZAK, Tomasz KNAPOWSKI, Wojciech KOZERA

e-mail: barczak@utp.edu.pl

Zakład Chemii Rolnej, Katedra Chemii Środowiska, Wydział Rolnictwa i Biotechnologii, Uniwersytet Technologiczno-Przyrodniczy, Bydgoszcz

## Wstępne badania składu aminokwasowego białka ziarna orkiszu nawożonego azotem i mikroelementami

## Wstęp

Orkisz (*Triticum aestivum* ssp. *spelta* L.) – heksaploidalna pszenica – z uwagi na cechy plonu, może być uprawiany zwłaszcza w gospodarstwach konwencjonalnych prowadzących niskonakładową produkcję [Cyrkler-Degulis i Bulińska-Radomska, 2006; Stalenga, 2007] oraz w gospodarstwach ekologicznych [Bavec i in., 2006].

Ziarno orkiszu pod względem wartości odżywczej uważa się za bardziej wartościowe niż ziarno pszenicy zwyczajnej – przesądza o tym wyższa zawartość oraz wartość biologiczna jego białka [Krawczyk i in., 2008]. Podejmowane są też próby wykorzystania orkiszu jako materiału genetycznego do modyfikacji cech bardziej plennej pszenicy zwyczajnej [Campbell, 1997; Waga i in., 2002].

Z uwagi na niewielkie dotychczas zainteresowanie uprawą orkiszu przeprowadzono stosunkowo niewiele badań nad tym gatunkiem. Szczególnie mało rozpoznane są zagadnienia wpływu nawożenia mineralnego na właściwości białka ziarna tego gatunku.

Celem podjętych badań była wstępna ocena wpływu zróżnicowanego nawożenia azotem oraz wybranymi mikroelementami na wartość odżywczo białka ziarna orkiszu na podstawie jego składu aminokwasowego.

## Materiał i metody

**Materiał** do badań stanowiło ziarno orkiszu ozimego zebranego w 2013 roku ze ścisłego dwuczynnikowego doświadczenia polowego, zrealizowanego w Minikowie, gmina Nakło. Założono je metodą losowanych podbloków w trzech replikacjach.

**Czynnik I rzędu** stanowiło nawożenie azotem ( $n = 6$ : 0, 20, 40, 60 (40+20), 80 (40+40), 100 (40+40+20)  $\text{kgN}\cdot\text{ha}^{-1}$ ). Aplikowano je w trzech terminach: wiosną w okresie ruszania vegetacji, w fazie strzelania w źdźbło (BBCH 34-37) oraz na początku kłoszenia (BBCH 50-51).

**Czynnik II rzędu** stanowiło nawożenie mikroelementami ( $n = 4$ : miedzią, cynkiem, manganem oraz łączne ich stosowanie). Miedź zastosowano w dawce  $0,1 \text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1}$ , cynk -  $0,2 \text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1}$ , mangan -  $0,3 \text{ kg}\cdot\text{ha}^{-1}$ . Mikroelementy stosowano dolistnie w fazie strzelania w źdźbło (BBCH 34-37).

**Skład aminokwasowy białka** oznaczano w ziarnie orkiszu po hydrolizie w 6 M HCl w temp.  $110^\circ\text{C}$ . Oznaczenie wykonano, rozdzielając aminokwasy na kolumnie z wypełnieniem *Hipersil ODS*  $3 \mu\text{m}$  i prowadząc detekcję fluorescencyjną po aldehydacji o-ftaldialdehydem na chromatografie firmy *Knauer*. Na podstawie zawartości aminokwasów obliczono ogólną ich sumę oraz sumę zawartości aminokwasów egzogennych.

Na podstawie składu aminokwasowego białka ziarna obliczono:

- zintegrowany wskaźnik aminokwasów egzogennych EAAI (*Essential Amino Acid Index*):

$$\text{EAAI} = (c_1/c_{01} \cdot c_2/c_{02} \cdot \dots \cdot c_n/c_{0n})^{1/n} \quad (1)$$

- wskaźnik aminokwasu ograniczającego AS (*Aminoacid Score*):

$$\text{AS} = (c_i/c_{0i}) \cdot 100\% \quad (2)$$

gdzie:

- $c_1, c_2, \dots, c_n$  – zawartość kolejnych aminokwasów egzogennych w badanym białku,
- $c_{01}, c_{02}, \dots, c_{0n}$  – zawartość kolejnych aminokwasów egzogennych w białku wzorcowym, za które przyjęto białko jaja kurzego [FAO, 1985].

Badaniom poddano próby z wszystkich obiektów doświadczalnych, a wyniki opracowano statystycznie przeprowadzając analizę

wariancji dla modelu doświadczenia i szacując różnice testem *Tukey'a* z prawdopodobieństwem 95%.

## Wyniki badań

Zawartość wielu aminokwasów w białku ziarna orkiszu była różnicowana zastosowanym nawożeniem azotowym (Tab. 1).

Tab. 1. Zawartość aminokwasów egzogennych w białku ziarna orkiszu, [%]

Amino-kwas	Dawka azotu, [ $\text{kgN}\cdot\text{ha}^{-1}$ ]						Średnia	NIR <sub>p=95%</sub>
	0	20	40	60	80	100		
Lys	2,2	2,2	2,3	2,0	2,1	2,0	2,1	n.u.
Meth	1,7	1,7	1,7	1,6	1,7	1,5	1,7	n.u.
Arg	5,6	5,6	5,5	5,3	5,4	5,1	5,4	0,4
Izo	2,9	2,9	2,8	2,8	2,8	2,7	2,8	n.u.
Leu	7,3	7,3	7,0	7,1	7,0	6,7	7,1	n.u.
Thr	2,9	3,0	2,6	2,7	2,9	2,5	2,8	0,3
His	2,4	2,3	2,3	2,3	2,2	2,0	2,3	n.u.
Fen	4,6	4,7	4,5	4,5	4,6	4,5	4,6	n.u.
Val	3,9	4,1	3,9	3,9	3,8	3,6	3,9	0,2

Pod wpływem dawek azotu w białku ziarna orkiszu zmieniała się istotnie zawartość niektórych aminokwasów egzogennych - arginy, treoniny i waliny. W wyniku zastosowania najwyższej z badanych dawek ( $100 \text{ kgN}\cdot\text{ha}^{-1}$ ) dla każdego w powyższych aminokwasów wykazano istotne obniżenie zawartości w stosunku do obiektu kontrolnego. W rezultacie sumaryczna zawartość aminokwasów w białku obniżyła się średnio z 85,9% w ziarnie nienawożonym azotem, do 81,1% dla ziarna z obiektu nawożonego dawką  $100 \text{ kgN}\cdot\text{ha}^{-1}$  (Tab. 2). Suma zawartości aminokwasów egzogennych dla powyższych obiektów wynosiła odpowiednio 33,3% i 30,7% (Tab. 2), osiągając dla obiektu z dawką  $100 \text{ kg N}\cdot\text{ha}^{-1}$  poziom porównywalny z oznaczanym w ziarnie pszenicy zwyczajnej [Ralcewicz i Knapowski, 2006].

Należy podkreślić, że istotne obniżenie zawartości niektórych aminokwasów w białku ziarna orkiszu stwierdzano tylko w wyniku zastosowania najwyższej z badanych dawek azotu ( $100 \text{ kgN}\cdot\text{ha}^{-1}$ ), którą częściowo ( $20 \text{ kg N}\cdot\text{ha}^{-1}$ ) aplikowano także w fazie kłoszenia (Tab. 1). Azot stosowany w fazie wschodów i strzelania w źdźbło, podobnie jak w badaniach *Spychaj-Fabisiak i in.* [2009], nie powodował tak wyraźnych zmian. Konsekwencją tego stanu rzeczy były niższe w porównaniu z obiektem kontrolnym średnie wartości wskaźnika aminokwasów egzogennych EAAI dla wszystkich obiektów nawożonych azotem, jednak różnica potwierdzona statystycznie dotyczyła wyłącznie obiektu z dawką  $100 \text{ kg N}\cdot\text{ha}^{-1}$  (Tab. 4).

Tab. 2. Ogólna suma zawartości aminokwasów w białku ziarna orkiszu, [%]

Dawka azotu, $\text{kgN}\cdot\text{ha}^{-1}$	Nawożenie mikroelementami					Średnia	NIR <sub>p=95%</sub> = 2,8
	0	Cu	Mn	Zn	Cu+Zn+ Mn		
0	88,4	86,3	84,3	85,5	84,9	85,9	
20	87,1	87,9	88,9	88,2	87,6	87,9	
40	85,9	83,5	83,9	84,7	82,5	84,1	
60	84,5	84,0	84,2	84,8	83,1	84,1	
80	86,6	83,8	82,6	84,6	82,2	84,0	
100	80,1	81,0	82,9	81,5	80,2	81,1	
Średnia	85,4	84,4	84,5	84,9	83,4	84,5	
NIR <sub>p=95%</sub> – n.u. NIR <sub>p=95%</sub> dla współdziałania: dawka azotu · nawożenie mikroelementami – n.u.							

Analiza wartości EAAI dla białka ziarna orkiszu wskazuje, że w warunkach niezbyt intensywnego nawożenia azotem (20 i 40 kg N ha<sup>-1</sup>) białko cechuje się porównywalną do pszenicy zwyczajnej [Nowak i Majcherczak, 2002], wysoką wartością biologiczną.

Zastosowanie wyższych dawek azotu (60 i 80 kg N ha<sup>-1</sup>), a zwłaszcza 100 kg N ha<sup>-1</sup>, powodowało obniżenie wartości wskaźnika EAAI. Uzyskane wartości omawianego wskaźnika są zbliżone do podawanych w literaturze dla orkiszu [Biel i in., 2010].

Zastosowane w badaniach mikroelementy w niewielkim stopniu wpływały na zawartość aminokwasów w białku ziarna orkiszu. Wprawdzie ogólna suma oraz suma zawartości aminokwasów egzogennych w białku nie były istotnie kształtowane przez nawożenie mikroelementami, ale ich średnie wartości dla obiektów nawożonych tymi składnikami były zawsze niższe niż dla obiektu kontrolnego (Tab. 2 i 3). Najniższe wartości omawiane sumy uzyskiwały w wyniku łącznej aplikacji miedzi, cynku i manganu.

Tab. 3. Suma zawartości aminokwasów egzogennych w białku ziarna orkiszu, [%]

Dawka azotu, kgN·ha <sup>-1</sup>	Nawożenie mikroelementami						Średnia	NIR <sub>p=95%</sub> – 1,3
	0	Cu	Mn	Zn	Cu+Zn+Mn	Średnia		
0	34,1	33,3	32,9	33,3	32,9	33,3	33,3	
20	34,1	33,5	34,1	33,5	34,2	33,9	33,9	
40	33,4	32,1	32,1	33,5	31,3	32,5	32,5	
60	32,2	32,2	31,9	32,2	32,1	32,1	32,1	
80	34,0	32,7	32,0	31,8	32,4	32,6	32,6	
100	30,2	30,3	32,1	31,0	30,0	30,7	30,7	
Średnia	33,0	32,4	32,5	32,5	32,2	32,5	32,5	
NIR <sub>p=95%</sub> – n.u.								
NIR <sub>p=95%</sub> dla współdziałania: dawka azotu · nawożenie mikroelementami – n.u.								

Na podstawie analizy wartości wskaźnika aminokwasu ograniczającego stwierdzono, że pierwszym aminokwasem limitującym biosyntezę białka ziarna orkiszu była lizyna (Tab. 5). Znalazło to potwierdzenie w badaniach Gawęckiego (2003), który wykazał dla białka ziarna wielu gatunków zbóż, że pierwszym aminokwasem pozostającym w minimum, jest lizyna. Nie brakuje jednak doniesień wskazujących na taką pozycję metioniny [Barczak i Nowak, 1998; Majcherczak i in. 2005]. Rolę drugiego aminokwasu ograniczającego spełniała izoleucyna, a trzeciego – metionina (Tab. 5). Wykazano, że zawartości lizyny i metioniny, dwóch spośród trzech aminokwasów, które w największym stopniu determinują wartość biologiczną białka ziarna orkiszu, nie były istotnie różnicowane przez badane czynniki (Tab. 1).

## Podsumowanie i wnioski

Skład aminokwasowy białka ziarna orkiszu zmieniał się pod wpływem badanych czynników nawozowych – zwłaszcza azotu. Niższe dawki tego składnika, do 80 kgN·ha<sup>-1</sup>, w stosunkowo niewielkim stopniu zmieniały zawartość aminokwasów w białku. Dopiero dawka 100 kgN·ha<sup>-1</sup>, stosowana częściowo również w fazie kłoszenia, obniżała wyraźnie zawartość niektórych aminokwasów w białku orkiszu, powodując obniżenie jego wartości biologicznej, czego wyrazem były obniżone wartości wskaźnika EAAI.

Zastosowane mikroelementy: miedź, mangan i cynk, nie wpływały istotnie na skład aminokwasowy białka ziarna orkiszu, chociaż zaznaczyła się tendencja do obniżania zawartości niektórych aminokwasów egzogennych pod wpływem tych pierwiastków, zwłaszcza stosowanych łącznie.

Tab. 4. Wartości wskaźnika aminokwasów egzogennych EAAI dla białka ziarna orkiszu, [%]

Amino-kwas	Dawka azotu, kgN·ha <sup>-1</sup>							Średnia	NIR <sub>p=95%</sub>
	0	20	40	60	80	100	Średnia		
EAA	60,6	61,7	60,0	58,2	59,4	55,6	59,1	2,4	

Przeprowadzone badania wykazały, że uwzględnienie w agrotechnice orkiszu nawożenia azotem do 80 kgN·ha<sup>-1</sup>, tj. na poziomie umożliwiającym uzyskanie 3-4 ton ziarna z 1 ha uprawy, a także mikroelementów, nie obniża wyraźnie walorów odżywczych białka tego gatunku.

Tab. 5. Wartości wskaźnika aminokwasu ograniczającego (AS) dla różnych aminokwasów białka ziarna orkiszu, [%]

Aminokwas								
Lys	Izo	Meth	Val	Thr	Arg	Leu	Fen	His
31,7	40,6	46,5	52,2	58,0	78,3	78,4	80,0	102,3

Wydaje się, że wykazana w przeprowadzonych badaniach duża stabilność składu aminokwasowego białka ziarna orkiszu czyni ten gatunek atrakcyjnym dla rolnictwa ekologicznego, w którym wprawdzie nie stosuje się nawozów azotowych, ale zalecane są nawozy naturalne będące źródłem azotu, a także mikroelementów

## LITERATURA

- Barczak B., Nowak K., 1998. Wpływ nawożenia azotem oraz przedplonu na jakość białka ziarna jęczmienia ozimego. Cz. II. Skład aminokwasowy białka. *Rocz. Nauk Rol. A*, **113**, nr 1-2, 43-58
- Bavec F., Rantaša I., Makar S., Grobelnik S., Jakop M., Bavec M., 2006. Yield performance in spelta regarding to hulled and dehulled seed sown at different rates and dates. *Fragm. Agron.* **11**, 43-44
- Biel W., Hury G., Maciorowski R., Kotlarz A., Jaskowska I., 2010. Wpływ zróżnicowanego nawożenia azotem na skład chemiczny ziarna dwóch odmian orkiszu (*Triticum aestivum* ssp. *spelta* L.). *Acta Sci. Pol., Zootechnica* **9**, nr 4, 5-14
- Campbell K. G., 1997. Spelt: agronomy, genetics, and breeding. *Plant Breed. Rev.* **15**, 188-213
- Cyrkler-Degulis M., Bulińska-Radomska Z., 2006. Plonowanie i zdrowotność odmian i populacji czterech gatunków pszenicy ozimej w warunkach gospodarstw ekologicznych. *J. Res. Appl. Agric. Eng.*, **51**, nr 2, 17-21
- FAO, FAO/WHO. *Energy and protein requirements*. 1985. Tech. Rep. No. 522. World Health Organization, Roma
- Gawęcki J., 2003. *Białka w żywności i żywieniu*. AR, Poznań.
- Krawczyk P., Ceglińska A., Kardialik J., 2008. Porównanie wartości technologicznej ziarna orkiszu z pszenicą zwyczajną. *Żywność Nauka Technologia Jakość*, **5**, nr 60, 43-51
- Majcherczak E., Kozera W., Barczak B., 2005. Wpływ wzrastającego nawożenia azotem na jakość białka ziarna jęczmienia ozimego. *Fragm. Agron.* **22**, nr 1, 493-502
- Nowak K., Majcherczak E., 2002. Skład aminokwasowy białka plonu roślin uprawianych w 4-letnim cyklu zmianowania w zależności od nawożenia i wapnowania. *Zesz. Prob. Post. Nauk Rol.*, **484**, 441-449
- Ralcewicz M., Knapowski T., 2006. The effect of some agrotechnical factors on grain yield and amino acid composition of protein of oat. *Biul. IHAR.* **239**, 193-204
- Spychaj-Fabisiak E., Ralcewicz M., Knapowski T., Kozera W., Barczak B., Nowak K., Majcherczak E., Murawska B., Janowiak J., 2009. *Effect of foliar fertilization with nitrogen and magnesium on chemical composition, biological value and baking quality of spring wheat grain*. [in:] Understanding the requirements for development of agricultural production and of rural areas in the kuyavian-pomeranian province as a result of scientific research. UTP, Bydgoszcz, 359-374
- Waga J., Węgrzyn S., Boros D., Cygankiewicz A., 2002. Wykorzystanie orkiszu (*Triticum aestivum* ssp. *spelta*) do poprawy właściwości odżywczych pszenicy zwyczajnej (*Triticum aestivum* ssp. *vulgare*). *Biul. IHAR*, **221**, 69-85

*Badania wykonano w ramach projektu Narodowego Centrum Nauki nr N N 310730440.*

*W pracy wykorzystano aparaturę zakupioną w ramach projektu „Realizacja II etapu Regionalnego Centrum Innowacyjności” współfinansowanego ze środków Europejskiego Funduszu Regionalnego w ramach „Regionalnego Programu Operacyjnego Województwa Kujawsko-Pomorskiego na lata 2007-2013”.*