

LUCYNA BURACZEWSKA  
*Instytut Fizjologii i Żywienia Zwierząt PAN w Jabłonie*

## INHIBITORY ENZYMÓW, TANINY, OLIGOSACHARYDY I FITYNIANY W NASIONACH ROŚLIN STRĄCZKOWYCH — PROBLEMY PRZEDSTAWIONE NA SEMINARIUM W HOLANDII W 1988 ROKU

W listopadzie 1988 r. odbyło się w Wageningen w Holandii międzynarodowe spotkanie („workshop”) naukowców pracujących nad czynnikami antyżywniowymi (ANF) nasion roślin strączkowych. Przedstawiono tam ok. 70 referatów i doniesień<sup>1)</sup>.

Celem niniejszego opracowania, przygotowanego w oparciu o materiały Zjazdu, jest przybliżenie czytelnikom aktualnego stanu wiedzy o tych czynnikach antyżywniowych w nasionach roślin strączkowych, które obniżają strawność i wykorzystanie składników pokarmowych paszy. Stosunkowo najwięcej prac, jakie przedstawiono na spotkaniu, dotyczyło takich substancji jak: inhibitory enzymów, taniny, oligosacharydy i fityniany. Związki te nie są czynnikami antyżywniowymi w ścisłym tego słowa znaczeniu, gdyż nie mają bezpośredniego ujemnego wpływu na metabolizm innych składników, ani na zdrowie zwierząt. Są jednak przyczyną niższej wartości odżywczej nasion roślin strączkowych i ograniczają ich zastosowanie jako paszy.

### *Inhibitory enzymów*

Inhibitory, zwłaszcza proteinaz są szeroko rozpowszechnione w nasionach roślin, a szczególnie w grupie roślin strączkowych z rodziny motylkowych (tab. 1). Różnią się one specyficznością i potencją działania, która zależy od konkretnego enzymu.

Większość inhibitorów obniża aktywność trypsyny, a wiele także chymotrypsyny. Wykryto także inhibitory wielu innych enzymów m.in. amylazy, karboksypeptydaz i pepsyny. Stanowią one system obronny rośliny przed jej szkodnikami.

---

<sup>1)</sup> Organizatorzy opublikowali już wszystkie materiały wraz z dyskusją i wnioskami w książce pt. Recent advances of research in antinutritional factors in legume seeds. Ed. J. Huisman; T.F.B. van der Poel and J.E. Liener. Pudoc Wageningen 1989. W Instytucie mamy 2 egzemplarze tej książki.

## Rodziny białkowych inhibitorów proteinaz serynowych

Inhibitory	Występowanie	Główne właściwości
Rodzina sojowego inhibitora trypsyny (Kunitz)	głównie w soi	Inhibitor trypsyny, słabo inhibituje także chymotrypsynę; jest inaktywowany przez ogrzewanie i sok żołądkowy
Rodzina sojowego inhibitora proteinaz (Bowman-Birk)	dominuje w nasionach strączkowych	Inhibituje trypsynę i chymotrypsynę człowieka i wielu zwierząt. Odporny na enzymy proteolityczne, także pepsynę
Rodzina ziemniaczanego inhibitora I	w bulwie ziemniaka, i innych <i>Solanaceae</i> , ale nie tylko	Inhibituje chymotrypsynę a słabo także trypsynę
Polipeptydowy inhibitor ziemniaczany II	w bulwie ziemniaka	Inhibituje karboksypeptydazy A i B różnych zwierząt. Odporny na ogrzewanie, rozpuszczalny w etanolu
Rodzina inhibitora dyni	w nasionach dyni, cukini, ogórków	Inhibituje trypsynę. Ma bardzo mały ciężar cząsteczkowy — ok. 3000
Zbożowe inhibitory proteinaz	w popularnych zbożach, kukurydzy, ryżu, sorgu	Inhibituje trypsynę, amylazę lub oba enzymy. Wykazują słabą aktywność i nie mają znaczenia w żywieniu.

Spośród wszystkich inhibitorów najwięcej uwagi poświęcono inhibitorom proteinaz serynowych. Są one inhibitorami kompetytywnymi, tworzącymi kompleksy stechiometryczne z enzymami, które to całkowicie inhibują. Wykazują one głęboką specyficzność i dlatego inhibitor, który silnie hamuje aktywność trypsyny bydłowej może nie inhibować trypsyny ludzkiej. Porównanie aktywności inhibitora trypsyny, oznaczonej przy użyciu trypsyn różnego pochodzenia, w ekstraktach z różnych pasz przedstawiono w tabeli 2. Wyniki dowodzą, że oznaczona aktywność inhibitora może w znacznym stopniu zależeć od pochodzenia trypsyny i sposobu wyrażania aktywności (na g próby, czy g białka). Dowiedziono także, że pH ekstrakcji inhibitorów nie jest bez znaczenia dla wyników. Zaleca się, aby np. w paszach dla świń oznaczać inhibitor trypsyny po

Tabela 2

Aktywność inhibitora trypsyny (A:U/g próby; B:U/g białka) w ekstraktach z różnych pasz, po ekstrakcji w pH 5,0 (wg Boisen, 1989)

Pasza	Pochodzenie trypsyny					
	wołowa		szczurza		wieprzowa	
	A	B	A	B	A	B
Strączkowe:						
soja	19,5	49,2	26,0	65,7	20,8	52,5
groch (Progreta)	6,0	23,9	6,6	26,3	4,5	17,9
groch (Stehgolt)	1,9	8,8	1,9	8,8	1,2	5,6
bobik	1,9	5,8	1,3	4,0	1,0	3,1
łubin	0,1	0,3	0,0	0,0	0,0	0,0
Zbóża:						
żyto	1,0	8,8	0,3	2,6	0,9	7,9
pszenżyto	0,9	6,9	0,4	3,1	0,8	6,2
pszenica	0,4	2,7	0,2	1,4	0,4	1,4
jęczmień	0,7	4,0	0,5	3,2	0,6	3,2
owies	0,1	0,7	0,0	0,0	0,0	0,0

ekstrakcji w pH=2,0 z dodatkiem pepsyny i następnie inkubować ekstrakt z trypsyną wieprzową.

Niekorzystny wpływ czynnych inhibitorów na organizm zwierzęcy wynika przede wszystkim z faktu zmniejszenia aktywności enzymów trawiennych (trypsyny, chymotrypsyny, amylazy) i obniżenia strawności, a także wykorzystania składników odżywczych, zwłaszcza białka paszy, co prowadzi do obniżenia przyrostu zwierząt. Inhibicja enzymów może także prowadzić do zwiększonej ich syntezy, a u niektórych gatunków zwierząt jak szczury, kurczęta i myszy, także do hipertrofii trzustki. Te objawy są wynikiem tzw. zwrotnej regulacji sekrecyjnej trzustki przez wolną trypsynę i chymotrypsynę, które inhibują hormon jelitowy cholecystokinino-pankreozyminę, a która to jest znana z jej zdolności do stymulowania sekrecji trzustkowej i powodowania zarówno hipertrofii jak hiperplazji tego organu. W przeciwieństwie do wolnych enzymów, ich kompleksy z inhibitorami trypsyny stymulują uwalnianie tego hormonu. Taki negatywny zwrotny mechanizm regulacji sekrecji enzymów trzustki stwierdzony u szczurów występuje także u ludzi, świń i u cieląt, ale nie wpływa u nich na rozrost trzustki.

Inhibitory trypsyny stanowią przynajmniej 6% wszystkich białek ziarna soi. Obniżenie tych antyżywniowych czynników osiąga się zwykle poprzez ogrzewanie rozdrobnionego ziarna (tostowanie). Dzięki temu zabiegowi inhibitory proteinaz są w dużym stopniu zainaktywowane, jednak ok. 10—15% tej aktywności może pozostać. Aby kontrolować proces tostowania należy sprawdzać aktywność inhibitora w produkcie tostowanym. Właśnie to Holendrzy zaproponowali uproszczoną i zminiaturyzowaną, ale dokładną i czułą metodę oznaczania aktywności inhibitora trypsyny, opartą na metodzie Kakade i wsp. z 1974 r.

Po soi, stosunkowo największą aktywność inhibitorów trypsyny, a także chymotrypsyny stwierdzono w grochu. Badania 33 europejskich odmian grochów jarych wykazały średnią aktywność inhibitora trypsyny ok. 2,5 U/mg s.m. (od 1,7 do 5,7 U). Stwierdzono ponadto, że odmiany zimowe charakteryzowała ok. 3—4 razy wyższa aktywność inhibitorów niż odmiany jare (od 7,3 do 11,2 U). Zwiększenie aktywności inhibitora z 1,2 do 3,8 U/mg s.m. w paszy dla świń obniżało o 5% pozorną strawność zawartego w niej białka.

Traktowanie grochu wysoką temperaturą (autoklawowanie w temp. powyżej 120°C, ekstruzja) obniża aktywność inhibitorów enzymów. Badacze francuscy uważają jednakże, że odmiany grochu o niskiej zawartości inhibitora trypsyny, a należą do tej grupy odmiany letnie, mogą być używane jako surowce stanowiąc 40—45% zbilansowanych mieszanek dla tuczu świń. Gdy idzie o prosięta lub warchlaki, to być może że takie zabiegi jak ekstruzja, nie tylko obniżająca aktywność czynników antyżywniowych, ale także ułatwiająca trawienie skrobi, byłaby zabiegiem opłacalnym. Granulowanie natomiast wykonane w temp. 80°C nie obniża aktywności inhibitorów, choć może poprawiać wykorzystanie paszy u świń do 60 kg.

W porównaniu z soją, a także z grochem, bobik zawiera najmniej inhibitorów enzymów i stanowią one zupełnie marginalny czynnik antyżywniowy w porównaniu z taninami i glikozydami, które to znacznie bardziej obniżają wartość odżywczą tej paszy.

### *Taniny*

Ogólnie przyjęto definicję, że są to rozpuszczalne w wodzie fenolowe związki o ciężarze cząsteczkowym między 500 a 3000, które dają zwykle fenolowe reakcje i wykazują specjalne właściwości, jak zdolność do strącania alkaloidów, żelatyny i innych białek. Taniny dzieli się na dwie grupy — hydrolizujące i niehydrolizujące inaczej skondensowane. Taniny hydrolizujące rozszczepiane są z pomocą kwasów i zasad, także enzymu

tannazy, do cukrów i kwasów fenolowo-karboksyłowych. Skondensowane taniny są polifenolami, nie zawierają cukrów w cząsteczce i ulegają depolimeryzacji tylko w silnych kwasach.

Taniny są głównym czynnikiem antyżywnościowym w sorgu, w bobiku, a także odgrywają pewną rolę w grochu, zwłaszcza w peluszcze. Istnieją duże różnice w ich zawartości, ale zawsze bobiki i grochy biało kwitnące zawierają mniej tanin niż kolorowo kwitnące i zawsze stężenie tanin w łupinie wielokrotnie przewyższa ich zawartość w całym nasieniu.

W związku z wielorakością struktur tanin istnieje wiele metod ich oznaczania, ale żadna nie jest zadowalająca. Najczęściej stosowaną metodą oznaczania tanin w sorgu i bobiku jest metoda wanilinowa, która to, gdy użyta we właściwej modyfikacji (Pierce et al. 1978) daje powtarzalne wyniki. Metody oparte na strącaniu białka niewiele mówią o rodzaju tanin, ale wyniki oznaczenia dają dobrą korelację z jakością pokarmową np. sorga. Jednakże interakcja między taninami i białkami w środowisku wodnym nastęrcza wiele wątpliwości odnośnie odzysku oznaczanych tanin.

Powinowactwo skondensowanych tanin w stosunku do różnych białek jest bardzo zróżnicowane. Takie np. białka jak żelatyna jest selektywnie wiązane przez taniny w obecności stukrotnego nadmiaru innego białka. Białka łatwo wiązane przez taniny charakteryzuje zwykle wysoki ciężar cząsteczkowy, wysoka proporcja aminokwasów hydrofobowych, wysoki udział proliny.

Chociaż taniny znane są z właściwości inaktywowania prawie wszystkich enzymów w doświadczeniach *in vitro*, to nie potwierdza się aż tak głęboki ich wpływ na enzymy *in vivo*. Skondensowane taniny w małym stopniu wpływają na morfologię jelita, czy sekrecję mucyn przez błonę śluzową; nie ma także dowodów ich wpływu na wchłanianie składników. Wydaje się, że ich ujemne działanie jest wynikiem bądź częściowej inhihibicji enzymów trawiennych, bądź tworzenia mniej strawnych kompleksów z białkiem paszy, a najprawdopodobniej obu procesów.

Stwierdzono, że niektóre zwierzęta np. szczury, myszy, mają zdolność przystosowania się do wysokiej zawartości tanin w paszy produkując białka śliny o wysokim powinowactwie do tanin. Tworząc kompleksy z tymi związkami zapobiegają ich ujemnemu działaniu na enzymy trawienne.

Polifenole wykazują nieco bardziej skomplikowany wpływ w żywieniu przeżuwaczy niż zwierząt jednożołądkowych. W pewnych warunkach paszowe taniny mogą mieć działanie pozytywne, zwłaszcza w przypadku tworzenia kompleksów z białkami, które unikają degradacji w żwaczu, ale potem są trawione w jelicie cienkim.

Taniny różnych roślin nie reagują jednakowo na taki czynnik jak ogrzewanie. Autoklawowanie bądź działanie gorącą parą na sorgo nie ma wpływu na jego wartość pokarmową podczas gdy ogrzewanie bobiku, czy tanin z bobiku może je unieczynnić.

Wynaleziono już wiele sposobów neutralizacji ujemnego wpływu tanin jak np. stosowanie dodatku do pasz specyficznych substancji wiążących taniny jak np. poliwinylpirrolidon lub glikol polietylenowy, lub traktowanie bobiku amoniakiem. Najprostszym sposobem obniżania ilości tanin jest jednak łuskanie nasion. A ponadto hodowcy mają już białe bobiki beztaninowe, które być może rozwiążą w przyszłości problem polepszenia tej paszy.

### *Oligosacharydy*

Nasiona roślin strączkowych zawierają wielocukry tzw.  $\alpha$ -galaktozydy, złożone z sacharozy i różnej liczby cząsteczek  $\alpha$ -galaktozy, która łączy się z resztą glukozową sacharozy wiązaniem  $\alpha$  (1—4). Do grupy tej należy rafinoza, stachioza, werbaskoza i ajugoza. Szczególną cechą tych cukrów jest to, że nie są one hydrolizowane w przewodzie pokarmowym zwierząt nieprzeżuwających, gdyż ani w soku trzustkowym, ani w śluzówce jelitowej nie występuje enzym  $\alpha$ -galaktozydaza, który rozszczepia wspomniane wiązania alfa. Cukry te ulegają rozkładowi głównie w jelicie grubym pod wpływem  $\alpha$ -galaktozydazy bakteryjnej. Produkty rozkładu są szybko metabolizowane do dwutlenku węgla, wodoru i metanu, a tworzenie się tych gazów powoduje wzdęcia, a nawet biegunki u zwierząt. Największa ilość gazów wytwarza się po skarmianiu stachiozy i werbaskozy, a szybkość ich tworzenia się zależy od szybkości hydrolizy wielocukrów do cukrów prostych.

Zawartość wielocukrów w nasionach różnych gatunków strączkowych jest zróżnicowana; obserwowano także różnice międzyodmianowe w obrębie tego samego gatunku. Najwięcej wielocukrów zawierają łubiny — od 6,8 do 18,7% s.m. nasion, zaś ich głównym komponentem jest stachioza. Okrywa nasienna łubinu zawiera nieco mniej wielocukrów niż część zarodkowa, stąd łuszczenie nasion nie jest zabiegiem, który może zmniejszyć wzdymające działanie tych nasion.

Próby usuwania wielocukrów polegają na ekstrakcji gorącą wodą, roztworem alkoholu, gotowaniu, kiełkowaniu, fermentacji i rozkładzie enzymatycznym. Stwierdzono, że nasiona strączkowych zawierają  $\alpha$ -galaktozydazę natywną, która podczas kiełkowania powoduje częściowy rozkład wielocukrów z odpowiednim zwiększeniem zawartości galaktozy i sacha-

rozy. Gotowanie nasion zmniejsza ilość wielocukrów, lecz również nie usuwa ich całkowicie.

Obserwowana zmienność genetyczna zawartości wielocukrów między różnymi liniami soi i łubinu stwarza szanse na wyhodowanie roślin o obniżonej ich zawartości.

### *Fityniany*

Fityniany (sole kwasu fitynowego) występują w nasionach roślin strączkowych w ilości od 1 do 5% s.m. Ich działanie antyżywniowe polega na tworzeniu słabo rozpuszczalnych kompleksów z dwu- i trójwartościowymi jonami metali, co w konsekwencji prowadzi do zmniejszenia dostępności związków mineralnych, a zwłaszcza wapnia, magnezu, cynku i żelaza. Niekorzystny wpływ fitynianów nasila się w obecności dużej ilości wapnia, co pozostaje w związku z tworzeniem się kompleksów z cynkiem (Zn-Ca-fityniany). Następuje to w górnej części przewodu pokarmowego zwierząt monogastrycznych i jest główną przyczyną małej dostępności cynku.

Stwierdzono także, że fityniany reagują z białkiem, zmniejszając aktywność enzymów trawiennych.

Zawartość fitynianów w nasionach strączkowych ulega zmniejszeniu na skutek działania enzymu fitazy pochodzenia endogennego, co następuje podczas kiełkowania nasion, lub fitazy pochodzenia bakteryjnego podczas ich fermentacji. Pewne znaczenie może mieć także łączenie nasion strączkowych z paszami zawierającymi duże ilości fitazy, jak np. pszenica, żyto lub otręby tych zbóż.

## PAŃSTWOWE WYDAWNICTWO ROLNICZE I LEŚNE POLECA

DR JACEK MARCINKOWSKI

### BYLINY OGRODOWE

WARSZAWA 1991, NAKŁAD 10 000 EGZ., STRON 580, CENA ZŁ 55.000

Niniejszą publikację Autor poświęca bylinom — roślinom monokarpicznym. Książka zawiera wiele cennych informacji o uprawie, pielęgnacji i zastosowaniu tych powszechnie lubianych roślin. Na wstępie omówiono produkcję bylin — sposoby rozmnażania, zaznaczając przydatność rozmnażania generatywnego i wegetatywnego. Autor zwraca uwagę na przydatność pojemników w przygotowaniu rozsady. Wskazuje na zalety otrzymania sadzonek tym sposobem i łatwiejszy sposób transportu oraz dużą swobodę, co do ter-

minu wysadzania. Autor omówił zasady prowadzenia szkółki w pojemnikach. Właściwie wszystkie byliny można uprawiać w pojemnikach, ale Autor podaje zestaw roślin, które przede wszystkim powinny być produkowane w pojemnikach. Są to rośliny trudne do przesadzania. Takich roślin Autor wymienia 70.

W części szczegółowej Autor omawia mikroklimat ogrodu, warunki glebowe, zastosowanie roślin w zależności od nasłonecznienia, braku lub nadmiaru wody, braku lub nadmiaru wapnia. Podano także byliny wymagające próchnicy liściowej, iglastej wrzosowej lub bagiennnej.

W dalszej części traktującej wybór materiału roślinnego podano dobór gatunków i odmian w zależności od długości życia bylin.

Ważne — na co Autor zwraca uwagę, jest grupowanie roślin na rabacie: pojedynczo, w małych grupkach, w większych grupkach oraz na dużych powierzchniach. W następnym rozdziale Autor omawia urządzenie nasadzenia bylinowego a więc plan sadzenia, zakup bylin i ich dołowanie, wysadzanie na miejsce stałe oraz pielęgnację po posadzeniu.

Dalej podano różnego rodzaju rabaty bylinowe: rabaty z roślin wysokich, niskich, — lubiące miejsca zacienione, rabaty z roślin skalnych, alpinarium. Podano dobór roślin w zależności od nasłonecznienia, rodzaju gleb, wilgotności i zasobności.

Dalsza część publikacji poświęcona jest ogródkom wrzosowiskowym. Podano zestaw roślin podstawowych i uzupełniających do nasadzeń w tych ogródkach. Ostatni rozdział części ogólnej zawiera roślin do ogrodu wodnego i nawodnego. Te efektownie wyglądające rośliny są uzupełnieniem miejsc szczególnie wilgotnych, bagiennych czy torfiastych. Zestaw roślin podano w tabeli a rysunki przedstawiają nasadzenia nawodne.

Część szczegółową stanowi przegląd gatunków bylin. Rośliny podano alfabetycznie według nazw łacińskich. Opisano poszczególne byliny. Podano ich charakterystykę, wartości zdobnicze, wymagania co do gleby, światła i nawadniania, sposoby rozmnażania, wytrzymałość na mróz oraz odmiany. Dalsza część publikacji poświęcona jest ochronie bylin przed chorobami i szkodnikami. Szkodniki podzielono na 2 grupy: żerujące na częściach nadziemnych i podziemnych. Następnie podano zasady zwalczania chorób i szkodników. Podano grupy środków chemicznych stosowane w zwalczaniu chorób a następnie szkodników bylin.

Publikację kończy skorowidz nazw łacińskich i polskich.

Ta cenna publikacja jest uzupełniona licznymi rysunkami i fotografiami barwnymi, co znacznie podnosi walory i ułatwia korzystanie z książki.

Książka przeznaczona jest dla miłośników bylin, dla studentów akademii rolniczych oraz nauczycieli biologii w szkołach średnich.