

UTICAJ ĐUBRENJA NA KOLIČINU AMINOKISELINA U POJEDINIM FAZAMA SUŠENJA KRUPNOLISNIH DUVANA

Gordana Kulić, Mirko Đukić
Poljoprivredni fakultet - Zemun
Srbija i Crna Gora

U V O D

U ćeliji lista, kao produktivnom organu biljke duvana, za vreme štave odvijaju se transformacije većeg broja visokomolekularnih jedinjenja u jedinjenja manje molekulske težine. U sklopu ovih transformacija dolazi i do promena u kiselinskom sastavu uopšte, a to znači i do promena aminokiselina, čiji je sadržaj imao uticaja na svojstva i kvalitet sirovine.

Eksperimentalni deo je usmeren tako da se omogući praćenje i dinamika aminokiselina u najkvalitetnijem lišću raznih sorti krupnolisnih duvana, u zavisnosti od različitih klimatskih i zemljišnih uslova, kao i različitih načina sušenja.

Cilj ovog rada je da dobijeni rezultati unesu više razumevanja u do sada nedovoljno ispitanu biohemijsku transformaciju ovih jedinjenja, ali i da ukažu na mogućnost izmene uslova u tehnološkim postupcima i načinu izvođenja štave. Na osnovu toga, uzimajući u obzir dosadašnje rezultate koji su u svetu ostvareni u oblasti proučavanja promene azotnih jedinjenja u procesu štave i sušenja duvana, postavili smo sebi zadatak da damo prilog proučavanju transformacije proteina i aminokiselina u pomenutim fazama.

MATERIJAL I METOD RADA

Pri izboru materijala za ogled, izabrani su uzorci virdžinijskih i berlejskih duvana, koji su u potpunosti različiti po svojim osobinama, a imaju i sasvim različitu namenu u fabrikaciji duvana. Ogled za berlej vršen je u Čoki 1998 godine, na parceli gde je procenat humusa bio 3,8%. Berlej je đubren različitim dozama đubriva (140:40:40; 120:40:40; 100:40:40).

Ispitivanja smo obavili na donjem srednjem lišću, imajući u vidu da je to insercija koja se smatra najkvalitetnijom i koja ima najveću upotrebnu vrednost za dati tip duvana.

Ogled za virdžiniju je izvršen u Sremskoj

Mitrovici 1998 godine, na parceli sa 2,5% humusa. Đubrenje je vršeno takođe sa različitim dozama đubriva (100:40:40; 80:40:40; 60:40:40). Za ispitivanje je korišćeno pravo srednje lišće, kao najkvalitetnije.

Određivanje aminokiselina vrši se pomoću Beckmen-ovog UNICHROM automatskog amino-kiselinskog analizatora, koji omogućuje kompletnu separaciju aminokiselina iz smeše. Osnovni princip analize je eluirajuća hromatografija iz puferizovanih kolona janoizmenjivačke smole, uz kolorimetrijsko određivanje izdvojenih komponenata reakcijom sa ninhidrinom.

REZULTATI ISTRAŽIVANJA

Neposredno posle berbe, list se nalazi u sirovom stanju i podvrgava se specijalnim tehnološkim postupcima, da bi se sadržaj pojedinih organskih jedinjenja doveo na potreban nivo.

U procesu štave, ćelije duvanske biljke su još uvek žive i procesi razlaganja u njima su veoma intenzivni, dok su procesi sinteze

minimalni. U svim fazama obrade duvana, od svih prisutnih jedinjenja u listu duvana, najintenzivniju transformaciju imaju skrob i hlороfil, koji se u potpunosti razlažu.

Jedinjenja azotnog kompleksa se menjaju u značajnom stepenu, pri čemu se uspostavlja odnos između proteina, aminokiselina i drugih

azotnih jedinjenja. Najmanje promene u azotnom kompleksu imaju nitratna jedinjenja, koja imaju veliki značaj i direktno utiču na sagorljivost duvana, dok se nitriti ne menjaju.

Promena aminokiselina u fazi štave i

PROTEIN (MEĐUPRODUKT) - AMINOKISELINA - AMONIJAK - AMIDI - AMONIJAK

Pri razlaganju proteina dolazi do nagomilavanja amonijaka. Ova pojava je značajna za cigaretnu duvanu, koji imaju kiselu reakciju. Kod pomenutih duvana dolazi do vezivanja amonijaka za neka druga jedinjenja, pa samim tim i do smanjenja baznosti. Produkti nastali iz ovih reakcija imaju značajnu ulogu za duvan. Tako se pretpostavlja da aldehidi, koji nastaju iz reakcije šećera i aminokiselina, daju odgovara-

sušenja umnogome zavisi od promena proteina u svim fazama. Proteini se preko aminokiselina razlažu do amonijaka. Ove promene mogu se predstaviti šematski:

juću aromu duvanu. Značajna je reakcija između furfurola i aminokiselina, pri čemu se stvaraju tamni produkti melanoidi. Ovo je posebno važno za svetle duvane, jer je boja jedan od pokazatelja kvaliteta. Što se tiče reakcije između šećera i aminokiselina, dokazano je da od šećera najintenzivnije deluje ksiloza, a od aminokiselina glikol, leucin i alanin.

KRETANJE SADRŽAJA AMINOKISELINA KOD SORTE BURLEY

Obzirom na specifičnost ove sorte, pa samim tim i specifičan hemijski sastav ovog duvana, to se i aminokiselinski sastav razlikuje, kako količinski tako i po intenzitetu promena pojedinih aminokiselina u određenim fazama

obrade, od drugih tipova i sorti duvana.

Količina i kretanje sadržaja aminokiselina kod sorte berlej, pri različitim dozama đubriva, data je u Tabeli 1.

Tabela 1. Sadržaj ukupnih aminokiselina pri različitim dozama đubriva za sortu berlej, donji srednji list, poreklo Čoka 1998 godine

Table 1. Total aminoacids content depending on different rates of fertilizer in Burley variety from Choka, 1998

Red. broj No	AMINOKISELINE AMINOACIDS	140 x 40 x 40			120 x 40 x 40			100 x 40 x 40		
		Neposredno posle berbe mg/kg SM Immediately after harvest	7 dana posle berbe 7 days after harvest	potpuno suv completely dry	Neposredno posle berbe mg/kg SM Immediately after harvest	7 dana posle berbe 7 days after harvest	potpuno suv completely dry	Neposredno posle berbe mg/kg SM Immediately after harvest	7 dana posle berbe 7 days after harvest	potpuno suv completely dry
1	GLIKOL	275.952	115.023	160.235	269.946	106.862	145.124	262.920	101.536	131.570
2	TIROZIN	53.102	19.125	18.321	49.091	15.902	22.493	42.070	12.231	19.536
3	FENILALANIN	112.270	55.793	86.231	104.260	52.992	80.142	98.250	49.689	73.243
4	ASPARAGINSKA K.	566.638	1.479.563	1.617.532	555.630	1.349.763	1.505.529	548.620	1.234.521	1.498.236
5	TREONIN	198.060	103.542	123.387	192.047	95.683	115.816	187.091	87.532	102.376
6	SERIN	230.980	136.257	163.921	224.992	128.977	152.816	217.980	119.532	147.362
7	LEUCIN	462.591	147.382	201.534	439.589	140.437	192.110	451.570	132.338	181.267
8	ALANIN	257.960	115.382	167.321	251.945	104.969	154.316	247.820	99.321	147.351
9	LIZIN	272.710	123.238	96.532	266.707	114.119	101.218	259.701	98.357	92.751
10	PROLIN	284.459	301.534	293.753	277.431	299.153	285.173	270.420	296.354	271.321
11	CISTEIN	7.520	u tragu	9.826	6.462	u tragu	7.664	4.150	u tragu	5.326
12	VALIN	195.142	72.354	93.326	188.135	65.038	89.123	180.230	60.354	88.356
13	METIONIN	29.692	9.563	14.682	22.680	7.694	10.700	16.530	5.892	9.536
14	IZOLEUCIN	201.070	63.345	91.728	193.053	59.258	84.279	187.430	51.356	79.826
15	GLUTAMINSKA K.	679.370	682.345	617.354	671.366	652.382	599.548	664.322	631.756	540.693
16	HISTIDIN	38.969	24.358	39.486	31.852	20.002	36.679	28.452	18.239	31.765
17	ARGININ	117.470	9.328	26.751	110.455	7.687	23.950	98.350	5.654	21.394
18	NH3	20.250	21.546	27.342	13.246	18.925	23.341	6.150	16.297	21.509

Posmatrajući sadržaj prolina, primećuje se da se u svim fazama ispitivanja nalazi približno ista količina ove aminokiseline, s tim što je maksimum dostigla u periodu sedam dana posle berbe. Za cistein je karakteristično da se sedam dana posle berbe nalazi samo u tragovima, ali zato, kada je list potpuno suv, kao i u momentu posle berbe, nalazi se u izvesnim količinama. Razlog ovako male količine cisteina u štavi može se objasniti činjenicom da pomenuta aminokiselina lako podleže oksidaciji. Što se tiče baznih aminokiselina (lizin i arginin), zapaža se njihovo smanjenje.

Kod histidina, sedam dana posle berbe dolazi do smanjenja, dok u potpuno suvom listu dolazi do povećanja ove aminokiseline. Količina lizina se smanjuje više od 50% sedam dana posle berbe, a zatim se još neznatno smanjuje u suvom lišću.

Možemo konstatovati da se za većinu aminokiselina najizrazitije smanjenje zapaža u periodu sedam dana posle berbe. Karakteristično je i to da je smanjenje za posmatrane aminokiseline približno isto, tj. nema većih odstupanja. Izuzetak je, donekle, arginin, čiji sadržaj se znatno smanjuje. Smanjenje je naročito

izraženo u potpuno suvom listu, mada je, po pravilu, količina aminokiselina u suvom listu duvana nešto veća nego u štavi.

Za glutaminsku kiselinu je karakteristično da, osim što se nalazi u velikim količinama, i to da joj se sadržaj postepeno smanjuje od momenta branja, do sušenja. Inače, ovo je jedna od najvažnijih aminokiselina. Posebno je značajno njeno učešće u metaboličkim procesima ćelija biljke.

Nastanak melanoidnih materija koje uslovljavaju tamnu boju, vezuje se za aminokiselinu tirozin. Tirozin se kasnije, pomoću fermenta tirozinaze, oksidiše u hinon dioksifenilalanin, posle čega se zatvara prsten i jedinjenje polimerizacijom prelazi u melanin. Kod duvana kao što je berlejš, obrazovanje tamne boje dolazi reakcijom hinona sa amino-kiselinama, uz učešće polifenol-oksidade.

Kao što se i očekivalo, amonijak se nalazi u znatnim količinama u svim ispitivanim fazama. Karakteristično je da mu se sadržaj povećava i to približno istim intenzitetom u periodu sedam dana posle berbe i u momentu kada je list potpuno suv.

KRETANJE SADRŽAJA AMINOKISELINA KOD SORTE VIRĐINIJA

Podaci dobijeni ispitivanjem duvana sorte virđinija, prikazani su u Tabeli 2.

Za ovu sortu je karakteristično da u suvom duvanu ima najviše amonijaka ali zato manji sadržaj aminokiselina. Kretanje baznih aminokiselina (lizin, histidin i arginin) u štavi i sušenju virđinije, razlikuje se od drugih ispitivanih sorti. Naročito je karakterističan mali sadržaj arginina u svim fazama sušenja, pri čemu je minimum dostignut na kraju procesa štave. Kod histidina je, takođe, zapažen minimum na kraju pomenute faze. Kod aminokiseline lizin, minimum je zabeležen u momentu kada je list potpuno suv. Kao što smo i očekivali, ispitujući virđinijski duvan, najveći sadržaj je zabeležen za asparaginsku, glutaminsku kiselinu i leucin.

Ispitujući, kako kretanje sadržaja, tako i ukupnu količinu asparaginske kiseline kod virđinije, sa kretanjem sadržaja ove aminokiseline kod drugih sorti, zapaža se da je sadržaj ove kiseline znatno manji. To je naročito izraženo ako uporedimo rezultate sa sadržajem ove aminokiseline u berlejšu.

Posmatranjem sadržaja glutaminske kiseline, zapažamo da je najmanja količina u

momentu posle berbe. Sa početkom štave dolazi do naglog povećanja njenog sadržaja i ta količina se održava uz neznatno povećanje do kraja ove faze a zatim ponovo dolazi do smanjenja kada je list potpuno suv.

Sadržaj aminokiseline leucin je u opadanju po svim ispitivanim fazama, sa izuzetkom završetka štave, kada dolazi do neznatnog povećanja. Serin se nalazi u znatnim količinama i to u svim ispitivanim fazama, osim na kraju štave, kada ga ima u minimalnim količinama. Tačnije, u "I/3" štave ove aminokiseline ima nešto više nego u početnom momentu, zatim dolazi do smanjenja njene količine a na kraju procesa sušenja do znatnog povećanja u odnosu na količinu serina koja je zabeležena na kraju procesa štave.

Identičan slučaj je i sa treoninom, s tim što kod potpuno suvog duvana ne dolazi do tako naglog povećanja sadržaja ove aminokiseline, u odnosu na kraj štave. Cisteina ima samo u tragovima. Kod alanina i metionina se zapaža opadanje sadržaja u pojedinim fazama. Razlika je u tome što alanina ima u znatnim količinama, dok metionina ima vrlo malo.

Tabela 2. Sadržaj ukupnih aminokiselina pri različitim dozama đubriva za sortu virdžinija, pravi srednji list, poreklo Sremska Mitrovica 1998 godine
 Table 2. Total aminoacids content depending on different rates of fertilizer in Virginia variety from Sremska Mitrovica, 1998

Red. broj No	AMINOKISELINE AMINOACIDS	100 x 40 x 40				80 x 40 x 40				60 x 40 x 40			
		Posle berbe After harvest	1/3 štave	Kraj štave	Suvi materijal	Posle berbe After harvest	1/3 štave	Kraj štave	Suvi materijal	Posle berbe After harvest	1/3 štave	Kraj štave	Suvi materijal
1	GLIKOL	142.235	121.551	92.115	67.534	137.532	115.340	85.048	60.526	131.235	109.328	79.840	54.628
2	TIROZIN	31.430	19.280	19.350	14.725	25.578	13.488	13.794	8.441	19.472	8.753	7.947	2.972
3	FENILALANIN	49.152	23.582	31.470	27.352	43.092	17.789	25.150	21.442	36.112	10.529	19.250	15.352
4	ASPARAGINSKA K.	259.720	260.320	49.320	224.431	253.916	253.819	43.119	218.831	247.921	246.853	37.248	215.514
5	TREONIN	89.115	81.580	16.111	50.630	83.065	75.447	10.016	44.748	75.012	68.825	5.189	37.526
6	SERIN	106.916	121.447	24.015	83.520	100.864	105.882	19.139	78.514	93.152	98.438	13.158	72.549
7	LEUCIN	240.270	182.330	192.700	95.781	236.358	174.418	185.800	89.916	230.859	169.184	180.530	82.615
8	ALANIN	126.703	101.211	79.402	73.823	120.619	97.147	73.503	69.944	117.916	92.432	63.328	62.544
9	LIZIN	275.215	52.420	64.730	42.053	269.315	46.790	58.844	37.021	262.513	40.023	52.433	27.158
10	PROLIN	198.413	247.322	236.580	249.431	192.512	241.422	230.360	243.541	187.217	236.538	222.451	237.413
11	CISTEIN	0.007	0.004	0.006	0.009	trag	trag	trag	trag	trag	trag	trag	trag
12	VALIN	89.450	68.320	56.270	48.382	83.393	62.562	50.308	42.328	78.452	57.328	46.802	37.823
13	METIONIN	17.328	15.421	14.952	12.118	11.239	9.408	9.355	6.211	5.329	3.748	3.258	1.238
14	IZOLEUCIN	91.452	62.738	201.559	42.722	83.984	56.837	194.449	36.983	79.453	43.372	189.382	30.452
15	GLUTAMINSKA K.	309.457	599.175	602.547	538.383	303.547	592.065	594.475	532.833	296.023	584.153	589.321	527.465
16	HISTIDIN	49.320	19.867	14.062	16.615	43.023	16.786	8.260	10.611	38.251	10.284	2.739	4.523
17	ARGININ	46.529	30.292	21.143	21.271	40.925	24.292	15.341	15.712	34.256	19.394	9.382	9.538
18	NH ₃	9.005	17.852	14.408	18.315	trag	11.258	8.804	11.513	trag	5.782	2.658	5.753

Za metionin je karakteristično da se u ispitivanim fazama štave malo menja. Na kraju procesa sušenja promena je izraženija i smanjenje je približno isto između početne vrednosti i vrednosti na početku štave, kao i između sadržaja ove aminokiseline na kraju procesa štave i u potpuno suvom lišću.

U početku procesa štave dolazi do naglog smanjenja sadržaja aminokiseline tirozin, da bi se ta količina održavala, uz neznatno povećanje, do kraja štave. Najmanja količina tirozina

zapaža se u momentu kada je list potpuno suv.

Povećanje sadržaja u odnosu na početnu količinu, osim kod aminokiseline serin, zapaža se još i kod izoleucina i to na kraju procesa štave. Kod glutaminske kiseline takođe se uočava povećanje u svim fazama u odnosu na početno stanje. Nasuprot tome, kod glikolola i valina (kao i kod metionina i alanina) zapaža se smanjenje u svim ispitivanim fazama u odnosu na početnu količinu.

Z A K L J U Ć A K

Zadatak ovog rada je praćenje razlaganja visokomolekularnih materija (proteina) kod duvana tipa virdžinija iz Sremske Mitrovice i tipa berlej iz Čoke u cilju utvrđivanja transformacija, kao i nastanak aminokiselina usled tih transformacija.

Odatle je interes praćenja bio usmeren na promene sadržaja aminokiselina u odnosu na degradaciju proteina, kao i uslova koji su karakteristični za ove faze, a u cilju konstatovanja nekih promena sa gledišta njihove zastupljenosti.

Na ovaj način je moguće sagledati smer i intenzitet njihove transformacije u zavisnosti od opšteg kretanja u štavi i sušenju. S druge strane, posmatrajući sistem transformacija aminokiselina i proteina, kao i drugih organskih jedinjenja u periodu dok je ćelija još živa, u mogućnosti smo da sagledamo pravac i intenzitet izmena drugih organskih jedinjenja. Ovaj pristup omogućuje da se prate i organoleptičke promene koje nastaju kao posledica izmene proteina, a to je posebno važno pri degustacionoj oceni.

Na osnovu rezultata ispitivanja može se zaključiti da aminokiseline povoljno deluju na kvalitet.

Prave vrednosti aminokiselina i njihove uloge u formiranju kvaliteta finalnog proizvoda dobila bi se tek nakon završne obrade, odnosno maturacije duvana. Tek tada bi se moglo vršiti poređenje između aminokiselinskog sastava,

odnosno davati sud na relaciji: količina aminokiselina - kvalitet pojedinih sorti.

Koristeći eksperimentalne podatke, bićemo u mogućnosti da indirektno utičemo na proces razlaganja visokomolekularnih jedinjenja i na taj način utičemo na stvaranje najoptimalnijeg odnosa između pojedinih grupa jedinjenja.

L I T E R A T U R A

1. Đukić M., 1986. Tehnologija duvana, Beograd.

2. Popović Ž., 1961. Fiziologija bilja, Beograd, 1961.

3. Smirnov A.I., 1956. Nauka o poznavanju duvana (prevod), Beograd.

4. Tomić Lj., Demin A., 1977. Tehnologija proizvodnje i poznavanje duvana, Beograd.

5. Džamić M., 1978. Osnovi biohemije, Beograd.

INFLUENCE OF FERTILIZING PROCESS ON AMINO ACID CONTENT DURING LONG LEAF TOBACCO CURING

Gordana Kulić, Mirko Đukić
Faculty of Agriculture - Belgrade

S U M M A R Y

The aim of investigation was detecting quantity and type of aminoacids, as a result of disconnection of high molecular chains such as proteins in Virginia tobacco grown in 1998 in Sremska Mitrovica production area and in Burley tobacco leaves grown in Čoka, the same year.

Quantity and types of aminoacids which originate in tobacco leaves, depend on quantity and formulation of fertilizer.

Changes in aminoacid content has great influence on tobacco quality properties.

Use of fertilizers in a field, while plant cells are alive, has great influence on aminoacid synthesis and it is possible to direct processes of synthesis in direction which can provide the best relation between various groups of elements in tobacco leaves, contributing to the better quality of tobacco leaves.

Author's address:
Gordana Kulić
Faculty of Agriculture
11080 Belgrade - Zemun
Nemanjina 6
Serbia and Montenegro