

Izolácia tyrozínu a leucínu z kukuričného gluténu

D. IVANČENKO, P. ZAJAC, A. ORAVCOVÁ

*Katedra chemickej technológie uhlôhydriátorov Slovenskej vysokej školy technickej,
Bratislava*

Jednoduchou metódou kryštalizácie v izoelektrickom bode sa podarilo z hydrolyzátu kukuričného gluténu izolovať čistý tyrozín. Preparát získaný kryštalizáciou pri izoelektrickom bode leucínu obsahoval okrem leucínu aj iné aminokyseliny.

Jedna z možností využitia bielkovinových odpadov je ich hydrolýza a získanie aminokyselín z hydrolyzátu [1—4]. V rámci výskumu zeínu sledovali sme možnosť izolácie tyrozínu a leucínu z jeho hydrolyzátov. Preskúšali sme spôsob získania týchto preparátov v ich izoelektrickom bode z prečistených hydrolyzátorov.

Experimentálna časť

Materiál

Pre pokusy sa použil rafinovaný kukuričný glutén (v ďalšom glutén) zo Slovenských škrobární, n. p., Boleráz, ktorého sušina bola 94,5 % a obsah bielkovín v sušine 70,5 %.

Hydrolýza gluténu

Na hydrolýzu sa použila 8 N-H₂SO₄ v 10 násobnom nadbytku voči gluténu. Kyselina sírová sa použila pre možnosť jednoduchého odstránenia jej nadbytku pomocou Ba(OH)₂. Hydrolyzovalo sa pri bode varu za obyčajného tlaku v sklenej banke pod spätným chladidlom. Chromatografickou analýzou sa zistilo, že hydrolýza sa skončí priebehom 7 hodín, a preto sa vo všetkých pokusoch dodržal tento čas.

Identifikácia aminokyselín

Priebeh hydrolýzy a čistota získaných preparátov sa zistovali pomocou zostupnej chromatografie na chromatografickom papieri Whatman 1. Ako rozpúšťadlo sa použila zmes butanol—kyselina octová—voda v pomere 4 : 1 : 5; vyvíjanie sa trikrát opakovalo. Detegovalo sa postrekom 0,1 % roztokom ninhydrínu v butanole.

Cistota preparátu tyrozínu sa overila aj spektrofotometriou v ultrafialovej oblasti (prístrojom UVISPEC fy Hilger).

Izolácia tyrozínu

Po skončení hydrolýzy vzniknuté humínové látky sa oddelovali filtráciou a získaný filtrát sa použil na vlastnú izoláciu tyrozínu. pH filtrátu sa prídavkom nasýteného roztoku Ba(OH)₂ upravilo na hodnotu 5,7 (izoelektrický bod tyrozínu). Vzniknutá zrazenina

BaSO_4 sa odstránila filtriáciou. Z filtrátu sa izoloval kryštalický tyrozín postupom použitým predtým pri spracovaní hydrolyzátov získaných pomocou HCl [5].

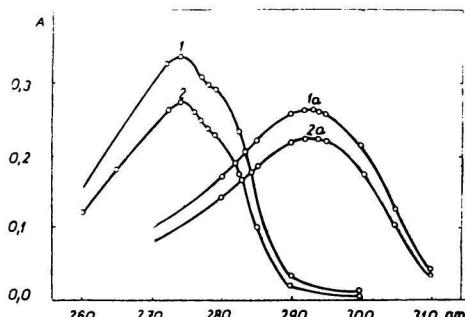
Izolácia leucínu

Po odstránení vylúčeného kryštalického tyrozínu sa pH filtrátu upravilo pomocou $\text{Ba}(\text{OH})_2$ na 5,9, čo zodpovedá izoelektrickému bodu leucínu. Po odfiltrovaní BaSO_4 sa filtrát zahustil za zniženého tlaku pri teplote 65—75 °C asi na 1/5 pôvodného objemu. Už v priebehu zahustovania sa začala vylučovať kryštalická zrezenina. Po zahustení sa roztok nechal kryštalizovať v klude za obyčajnej teploty. Vzniknuté kryštálky sa sfiltrovali a vysušili pri 50 °C.

Výsledky a diskusia

Získaný tyrozín má vzhľad jemných bezfarebných kryštálikov ihličkovitého tvaru. Bod topenia bol 280—290 °C, čo je v súlade s údajmi v literatúre [6].

A. J. Žušman [1] uvádzá, že pri pH 5—6 nastáva kryštalizácia zmesi aminokyselín. Možno to vysvetliť tým, že v tomto rozmedzí sú izoelektrické body aj iných aminokyselín, a preto pri zahustovaní dochádza k ich vylúčeniu. Pri dodržaní pH 5,7 a pri vhodnej koncentrácii roztoku sa vylučuje pomerne čistý preparát. Spektrofotometrické vlastnosti získaného preparátu zodpovedajú údajom v literatúre [7] a vlastnostiam čistej vzorky tyrozínu (obr. 1).



Obr. 1. Ultrafialové spektrá.

1. štandard tyrozínu v 0,1 n-HCl; 2. získaný preparát tyrozínu v 0,1 n-HCl; 1a. štandard tyrozínu v 0,1 n-NaOH; 2a. získaný preparát tyrozínu v 0,1 n-NaOH.

Získaný preparát tyrozínu neboli znečistený inými aminokyselinami, čo sa dokázalo chromatograficky.

Výtažok tyrozínu vzhľadom na jeho obsah v rafinovanom kukuričnom gluténe bol 62,6 %.

Pri identifikácii získaného preparátu leucínu chromatografickou analýzou sa zistilo, že nie je čistý, ale je to zmes týchto aminokyselín: leucín, ktorého je najviac, kyselina glutamová, kyselina asparágová a alanín.

ВЫДЕЛЕНИЕ ТИРОЗИНА И ЛЕЙЦИНА ИЗ КУКУРУЗНОГО ГЛЮТЕНА

Д. Иванченко, П. Заяц, А. Оравцовা

Кафедра химической технологии углеводов Словацкого политехнического института,
Братислава

Подтвердилась возможность получения чистых аминокислот из гидролизатов белков в их изоэлектрической точке. Применялся рафинированный кукурузный глютен, высушенный на 94,5 %, содержание белка в высушенном глютене было 70,5 %. Для гидролиза применяли 8 n-H₂SO₄ в 10 раз превышающем количество по отношению к глютену. Гидролиз продолжался в течение 7 часов при температуре кипения. Прибавлением насыщенного раствора Ba(OH)₂ установили pH фильтрата равным 5,7. Фильтрованием был удален образовавшийся осадок BaSO₄. Раствор стоял при 5° и после этого выделили кристаллический тирозин. Выход тирозина по отношению к его содержанию в рафинированном кукурузном глютене был 62,6 %. Препарат тирозина не содержал других аминокислот.

После выделения тирозина прибавлением Ba(OH)₂ pH фильтрата установили равным 5,9. После удаления фильтрацией BaSO₄ фильтрат был выпарен при температуре 65 — 75° до 1/5 первоначального объема. Во время выпаривания начал выделяться кристаллический осадок. После выпаривания раствор оставили спокойно кристаллизоваться при лабораторной температуре. Полученный кристаллический препарат содержал в основном лейцин, который был загрязнен глютаминовой и аспартовой кислотами и аланином.

Preložila T. Dillingerová

ISOLIERUNG VON TYROSIN UND LEUCIN AUS MAISGLUTEN

D. Ivančenko, P. Zajac, A. Oravcová

Lehrstuhl für chemische Technologie der Kohlenhydrate an der Slowakischen Technischen Hochschule, Bratislava

Es wurde die Möglichkeit der Gewinnung von reinen Aminosäuren aus Eiweisshydrolysaten bei dem isoelektrischen Punkt nachgeprüft. Dazu wurde raffiniertes Maisgluten mit einem Trockengehalt von 94,5 % und einem Eiweissgehalt in der Trockensubstanz von 70,5 % benutzt. Für die Hydrolyse wurde 8 n-H₂SO₄ in einem 10fachen Überschuss gegen Gluten verwendet. Die Hydrolyse verlief während 7 Std. beim Siedepunkt. Der pH-Wert des Filtrats wurde durch Zugabe einer gesättigten Ba(OH)₂-Lösung auf 5,7 eingestellt. Das entstandene BaSO₄ wurde abfiltriert. Nach Stehenlassen der Lösung bei 5 °C scheideten sich Kristalle von Tyrosin aus. Die Ausbeute an Tyrosin in Bezug auf dessen Gehalt im raffinierten Maisgluten betrug 62,6 %. Das erhaltene Präparat Tyrosin enthielt keine anderen Aminosäuren.

Nach dem Abfiltrieren des Tyrosins wurde die Lösung mit Ba(OH)₂ auf pH 5,9 eingestellt. Nach dem Filtrieren des ausgefällten BaSO₄ wurde das Filtrat bei einer Temperatur von 65—75 °C auf 1/5 des ursprünglichen Volumens eingeengt. Im Verlauf des Eindickens begann sich ein kristallischer Niederschlag auszuscheiden. Nach dem Eindicken liess sich die Lösung in der Ruhe bei Laboratoriumstemperatur kristallisieren. Das erhaltene kris-

tallische Präparat enthielt vor allem Leucin, das durch Glutaminsäure, Asparaginsäure und Alanin verunreinigt war.

Preložil K. Ullrich

LITERATÚRA

1. Žušman A. J., *Sacharnaja promyšlennost* **6**, 60 (1960).
2. Haurowitz F., *Chimijs i biologija belkov*, 23. Izdatelstvo inostrannoj literatury, Moskva 1953.
3. Mareček V., *Bílkovinné hydrolyzáty potravinářské*, 26. Ministerstvo potravinářského průmyslu, Praha 1955.
4. Koštíř J., Šícho V., *Biochemie*, 106. Státní nakladatelství technické literatury, Praha 1955.
5. Ivančenko D., Zajac P., Hanulová D., *Sborník prác Chemickej fakulty SVŠT* **2**, 73. Bratislava 1962.
6. Heilbron I., Bunbury H. M., *Slovar organičeskich sojedinenij III*, 900. Izdatelstvo inostrannoj literatury, Moskva 1949.
7. Gillem A., Stern E., *Elektronnyje spektry poglošenija organičeskich sojedinenij*, 265. Izdatelstvo inostrannoj literatury, Moskva 1957.

Do redakcie došlo 20. 5. 1963
V revidovanej podobe 10. 10. 1963

Adresa autorov:

Prof. dr. inž. Dimitrij Ivančenko, inž. Peter Zajac, inž. Anna Oravcová, Katedra chemickej technológie uhľohydérátov SVŠT, Bratislava, Kollárovo nám. 2.