

Izolácia škrobu zo zrna láskavca metlinatého (*Amaranthus cruentus*)

GABRIELA HALÁSOVÁ—LADISLAV DODOK—JÁN LOKAJ—ANDREJ SMELÍK—
VALTER VOLLEK

Súhrn. Škrob sme zo zrna láskavca metlinatého izolovali piatimi spôsobmi. Najväčšiu výťažnosť škrobu sme získali postupom máčania vo vode pri teplote 6—8 °C, a to 59,36 %. Najčistejší škrob sa izoloval máčaním vo vode pri teplote 6—8 °C a čistením NaCl, NaOH a etanolom (najmä vyhovuje požiadavke 1 % obsahu bielkovín). Neobsahuje nijaký tuk.

Mikroskopické snímky pri 320-násobnom zväčšení a rastrovacou elektrónovou mikroskopiou potvrdili hexagonálny tvar zrníek škrobu. Priemerná veľkosť zrnka je 1 µm.

K prvým prácam zaoberajúcim sa izoláciou škrobu z láskavca metlinatého (*A. cruentus*) patria pokusy Mac Mastersa a kol. [1]. Urobili to preto, že škrobové zrnká z *A. cruentus* sú veľmi malé a pritom ich veľkosť je jednotná a tak sú vhodné na štúdium fagocytózy. Veľkosť škrobových zrníček sa pohybuje v priemere od 1—3 µm. Tvar zrníek je guľovitý (sférický). Zrnká škrobu sú buď voskového typu (waxy) alebo lepkavého (glutinous), takže s jódovým roztokom sa farbia na červenohnedo, a nie na modro. Goering [2] izoloval škrob z *A. retroflexus* technikou mokrého mletia a máčaním zrna v kyseline mliečnej pri teplote 50 °C. Záujem o láskavcový škrob vzrástol najmä v rokoch sedemdesiatych. Štúdiom zloženia zŕn *A. hypochondriacus* sa zaoberal kolektív autorov pod vedením Beckera [3]. Škrob izolovali po máčaní v acetátovom tlmivom roztoku (pH 6,5) podľa dovtedy známych spôsobov na izoláciu cereálnych škrobov podľa Adkinsa [4]. Podľa Beckera a kol. [3] *A. hypochondriacus* obsahuje v priemere 62 % škrobu. Tento škrob porovnávali s pšeničným škrobom. Podľa ich výsledkov má láskavcový škrob z *A. hypochondriacus* približne taký istý obsah bielkovín (0,49 %) ako škrob pšeničný (0,35 %), ale väčší obsah tuku

Doc. Ing. Gabriela Halášová, CSc., doc. Ing. Ladislav Dodok, CSc., doc. Ing. Andrej Smelík, CSc., Katedra sacharidov a konzervácie potravín;

Ing. Ján Lokaj, CSc., Centrálné laboratórium chemickej techniky;

RNDr. Valter Vollek, Katedra mikrobiológie, biochémie a biológie, Chemickotechnologická fakulta STU, Radlinského 9, 812 37 Bratislava.

(1,1 % a 0,54 %). Napučíavacia schopnosť škrobu je malá, jeho rozpustnosť vo vode v porovnaní s rozpustnosťou pšeničného škrobu je vysoká. Obsah amylózy je oveľa menší (7,2 %) ako v pšeničnom škrobe. Láskevový škrob má oveľa vyššiu schopnosť viazať vodu. Teplotný interval mazovatenia je posunutý do oblasti vyšších teplôt ako v pšeničnom škrobe, začína pri teplote 62 °C a končí pri teplote 68 °C. (Pšeničný škrob má interval mazovatenia 52—56 °C).

Lorenz a Collins [5] urobili snímky láskevového škrobu (*A. hypochondriacus*) rastrovacou elektrónovou mikroskopiou. Saunders a Becker [6] okrem *A. hypochondriacus* rozšírili prácu na odrody *A. caudatus* a *A. cruentus*. Udvávajú obsah škrobu v odrode *A. cruentus* 48 %. Najviac pozornosti sa v literatúre venuje izolácii škrobu z *A. hypochondriacus*, najmä výskumná skupina pod vedením Paredesa-Lópeza v Mexiku [7—9]. Vyzdvihli vysoký obsah amylopektínu v škrobe z *A. hypochondriacus* a polygonálny tvar zrníek škrobu. V Indii Wankhede a kol. [10] izolovali škrob z odrody *A. paniculatus* a študovali jeho fyzikálnochemické vlastnosti. Je to typicky voskový škrob s obsahom amylopektínu 88,5 % s malou tendenciou k retrogradácii. V Argentíne Cortella a Pochettino [11] študovali škrob izolovaný z *A. caudatus* a zistili jeho zaujímavú vlastnosť — schopnosť vytvárať zhluky, tzv. klastery (clusters) a práve tieto jeho morfológické znaky možno použiť na charakterizáciu tzv. pseudocereálií, ku ktorým patrí aj láskevec.

Materiál a metódy

Vzorku láskevca metlinatého dodal Výskumný ústav raslinnej výroby v Piešťanoch.

Na izoláciu škrobu sme vyskúšali päť spôsobov líšiacich sa hlavne máčaním zrna.

1. máčanie zrna v roztoku kyseliny mliečnej pri teplote 48—50 °C,
2. máčanie zrna v roztoku kyseliny mliečnej pri teplote 4—6 °C,
3. máčanie vo vode pri teplote 4—6 °C,
4. máčanie vo vode pri 4—6 °C s nasledovnou purifikáciou s NaOH a NaCl a etanolom,
5. máčanie v acetátovom tlmivom roztoku (pH 6,5) pri 4—6 °C.

1. Zrno sme máčali 48 h pri teplote 48—50 °C v roztoku kyseliny mliečnej koncentrácie $c = 0,15 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$. Máčaciu vodu sme oddelili od zrna odliatím. Zrno sme rozdrvili za prídavku vody v mixéri ETA MIRA typ 011 (fy Elektropraga, Hlinsko), a to 1 minútu pri frekvencii otáčania 6500 min^{-1} , 1 minútu pri frekvencii otáčania 8500 min^{-1} a 2 minúty pri frekvencii otáčania $10\,500 \text{ min}^{-1}$. Aby sme odstránili vláknu, získanú suspenziu prepierali na sitách veľkosti ôk 0,177 mm a 0,150 mm. Zo škrobovej suspenzie zbavenej vlákniny sme škrob

oddelili odstredovaním na stolnej odstredivke firmy Janetzki typ T24 pri frekvencii otáčania 3000 min^{-1} počas 30 min ($0,83 \text{ s}^{-1}$). Surový škrob sme prečistili viacnásobným resuspendovaním vo vode a následným odstredovaním. Získaný škrob sme vysušili voľne na vzduchu pri laboratórnej teplote.

2. Postupovali sme rovnako ako v prvom prípade, ale máčanie sme robili pri teplote $4\text{--}6^\circ\text{C}$.

3. Zrno sme máčali vo vode pri $4\text{--}6^\circ\text{C}$ počas 24 h. Oddelili sme máčaciu vodu. Za pridania čerstvej vody sme zrná rozdrvili v mixéri podobne ako v predchádzajúcom postupe. Vlákniu sme oddelili na sitách veľkosti ôk $0,177 \text{ mm}$ a $0,150 \text{ mm}$. Zo škrobovo-bielkovinovej suspenzie sme oddelili surový škrob odstredovaním na odstredivke firmy Janetzki typ T24 pri frekvencii otáčania 3000 min^{-1} ($0,83 \text{ s}^{-1}$) počas 30 min. Surový škrob sme čistili tak, že sme ho suspendovali v 2 % roztoku NaCl, ponechali v klude 24 h pri $6\text{--}8^\circ\text{C}$. Škrob zo suspenzie sme oddelili odstredovaním pri frekvencii otáčania 3000 min^{-1} po dobu 30 min. Zvyšky NaCl sme zo škrobu odstránili premývaním destilovanou vodou (dvakrát). Škrob sme suspendovali v roztoku NaOH, $c = 0,1 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$. Nechali v klude stáť 24 h pri $6\text{--}8^\circ\text{C}$. Škrob zo suspenzie sme oddelili odstredovaním na odstredivke firmy Janetzki typ T24 pri frekvencii otáčania 3000 min^{-1} počas 30 min. Zvyšky NaOH zo škrobu sme odstránili suspendovaním v destilovanej vode a nasledovným odstredovaním (opakovali sme dvakrát). Odstredovali sme na tej istej odstredivke s frekvenciou otáčania 3000 min^{-1} . Získaný škrob sme ďalej čistili suspendovaním v roztoku 80 % etanolu a zahriatím vo vodnom kúpeli na teplotu $75\text{--}80^\circ\text{C}$ 1 h. Potom sme suspenziu dekantovali a oddelili číry podiel odliatím. Zvyšný alkohol sme zo škrobu odstránili vymrazením. Čistý škrob sme vysušili pri laboratórnej teplote.

4. Škrob sme izolovali máčaním zrna pri 6°C 24 h v acetátovom tlmivom roztoku koncentrácie $c = 0,02 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ (pH 6,5) obsahujúcom roztok HgCl_2 , $c = 0,01 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ v množstve 100 cm^3 (inhibuje enzýmovú aktivitu). Po máčaní sme zrno premývali destilovanou vodou. Zrno sme rozdrvili v mixéri ako v predchádzajúcich postupoch. Vlákniu sme oddelili na sitách uvedených veľkostí ôk. Škrob zo suspenzie sme oddelili odstredovaním pri frekvencii otáčania 3000 min^{-1} 30 min. Škrob sme vysušili pri laboratórnej teplote.

V izolovaných škroboch sme stanovili sušinu, popol, tuk, dusík podľa ČSN 560176 [f12] a škrob polarimetricky použitím CaCl_2 [13], ďalej extrakciou kyselinou chloristou a zrážaním do komplexu jódom a hydrolýzou na glukózu [14] a po hydrolýze kyselinou sírovou [14] a polarimetricky podľa Browna–Zerbana [15].

Spôsob mletia a parametre centrifugovania boli rovnaké pri všetkých piatich spôsoboch.

Výsledky a diskusia

Cieľom našej práce bolo nájsť najvhodnejší spôsob izolácie škrobu zo zrna láskavca metlinatého (*Amaranthus cruentus*).

Vyskúšali sme päť spôsobov:

1. Kyslý spôsob za použitia kyseliny mliečnej ako máčacieho média pri teplotách 48—50 °C, t. j. za tepla.
2. Kyslý spôsob za použitia kyseliny mliečnej ako máčacieho média za studena pri teplote 6—8 °C.
3. Neutrálly spôsob — máčacie médium voda za studena pri teplote 6—8 °C.
4. Neutrálly spôsob za studena pri teplote 6—8 °C s následnou rafináciou surového škrobu NaCl, NaOH a etanolom.
5. Máčanie vo vode pri hodnote pH 6,5, t. j. v mierne kyslom prostredí za studena ($t = 6\text{—}8\text{ }^{\circ}\text{C}$).

Počas izolácie škrobu sme získali vlákninu, a to dvojakej veľkosti — vlákninu zachytenú na site veľkosti ôk 0,177 mm a potom vlákninu jemnejšiu zachytenú na site veľkosti ôk 0,150 mm. Najmenšie množstvo vlákny sme získali pri prvom spôsobe izolácie — 13,41 % a najväčšie pri piatom spôsobe — 14,74 %. Druhým spôsobom izolácie sme získali 13,78 % a tretím spôsobom 14,49 % (tab. 2).

Maximálnu výťažnosť škrobu sme dosiahli 3. spôsobom izolácie, a to z 100 g zrna 59,36 %, najnižšiu 50 % pri 4. spôsobe. Výťažnosť kyslého spôsobu za tepla bola 57,32 % a za studena 56,43 %. Výťažnosť po máčaní vo vode pri pH 6,5 bola 56,60 % (tab. 2).

Získaný škrob sme podrobili analýze podľa ČSN 56 0716 [12].

Dôležitým kritériom kvality škrobu je obsah bielkovín, ktorý nemá presahovať podľa ČSN pre kukuričný škrob 1 %, čiže ide o čo najlepšie oddelenie bielkovín, najmä počas máčania, resp. počas nasledujúcej purifikácie. Keď porovnáme škroby získané rôznym spôsobom izolácie (tab. 3), najkvalitnejší je škrob purifikovaný NaCl, NaOH a etanolom, lebo obsahuje 1,09 % bielkovín. Výhodný je aj spôsob máčania v kyseline mliečnej, získaný škrob obsahuje 1,92 % bielkovín, ktoré možno odstrániť purifikáciou NaCl, NaOH a etanolom. Škroby izolované ďalšími tromi spôsobmi nevyhovujú požiadavkám kvality. Napriek tomu, že 4. spôsobom sme získali najmenej škrobu zo zrna (50 %), bol najčistejší, obsahoval najmenej sprievodných látok (tab. 3).

Pri izolácii škrobu máčaním zrna vo vode za studena a následnou purifikáciou škrobu sa odstránilo 92,06 % bielkovín, 100 % tuku a 97,12 % popola. Za 100% obsah uvedených látok sme brali hodnotu, ktorú sme stanovili pri rozboře zrna (tab. 1), a to 14,63 % bielkovín, 7,63 % tuku a 2,96 % popola. Pomerne

Tabuľka 1. Zloženie zrna láskavca metlinatého
Table 1. Amaranth grain composition

Vlhkosť ¹ [%]	7,10
Sušina ² [%]	92,90
Popol ³ [%]	2,75
Popol ³ [%/100 % S]	2,96
Škrob čistý ⁴ [%/100 % S]	55,41
Tuk ⁵ [%/100 % S]	7,63
Celkový dusík ⁶ [%/100 % S]	2,34
Bielkoviny ⁷ [%/100 % S]	14,63

S — sušina, 8 — faktor pre výpočet obsahu bielkovín 6,25

1 — moisture, 2 — dry matter, 3 — ash content, 4 — pure starch, 5 — lipids, 6 — total nitrogen, 7 — proteins, 8 — dry matter, 8 — correction constant for the calculation of protein content — 6.25

Tabuľka 2. Množstvo zložiek izolovaných jednotlivými spôsobmi
Table 2. Quantity of components isolated by various procedures

Zložka ¹	Množstvo ² [%] spôsob ³				
	1.	2.	3.	4.	5.
Hrubá vláknina ⁴	10,25	10,56	10,82	10,82	11,60
Jemná vláknina ⁵	3,16	3,22	3,67	3,67	3,14
Škrob surový ⁶	57,32	56,43	59,36	50,00	56,80

1 — component, 2 — quantity, 3 — procedure, 4 — crude fibre, 5 — fine fibre, 6 — raw starch

Tabuľka 3. Zloženie amarantového škrobu izolovaného rôznymi spôsobmi
Table 3. Composition of amaranth starch isolated by different procedures

Parametre ¹	Spôsob izolácie ²				
	1.	2.	3.	4.	5.
Vlhkosť ³ [%]	10,20	11,10	11,60	9,40	11,30
Sušina ⁴ [%]	89,80	88,90	88,40	90,60	88,70
Popol ⁵ [%]	0,07	0,09	0,11	0,08	0,09
Popol ⁵ [%/100 % S]	0,08	0,10	0,12	0,088	0,11
Škrob čistý ⁶ [%/100 % S]	87,30	83,48	82,04	89,42	82,38
Tuk ⁷ [%/100 % S]	0,016	0,02	0,02	0,00	0,02
Celkový dusík ⁸ [%/100 % S]	0,42	0,90	1,06	0,186	1,06
Bielkoviny ⁹ [%/100 % S]	1,92	5,30	6,21	1,09	6,19

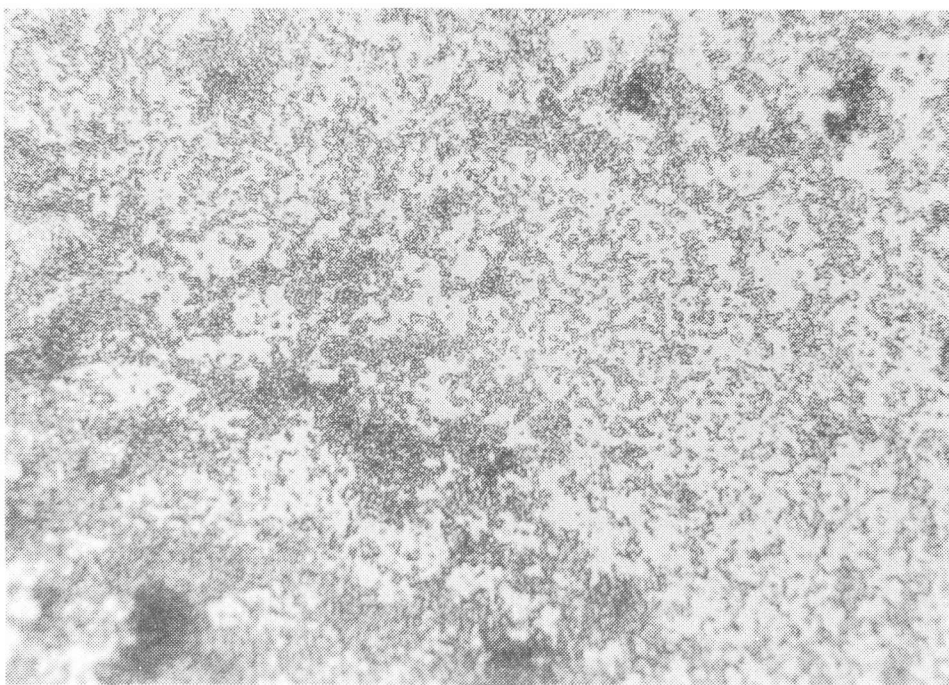
1 — parameters, 2 — isolation procedures, 3 — moisture, 4 — dry matter, 5 — ash content, 6 — pure starch, 7 — lipids, 8 — total nitrogen, 9 — proteins

čistý škrob sme získali aj máčaním v kyseline mliečnej za tepla s výťažnosťou 57,32 %. Obsah sprievodných látok je uvedený v tab. 3.

Počas izolácie sme odstránili 82,5 % bielkovín, 98,0 % tuku a 96,7 % popola. Ak uvažujeme, že zrno obsahuje 55,41 % škrobu, výťažnosť vzťahovaná na toto množstvo škrobu je takáto: 1. spôsob 98,9 %, 2. spôsob 92,1 %, 3. spôsob 95,7 %, 4. spôsob 88,2 %, 5. spôsob 91,1 %. Od nečisteného škrobu sme odčítali obsah bielkovín, popola a tuku a z tohto čistého škrobu sme počítali výťažnosť.

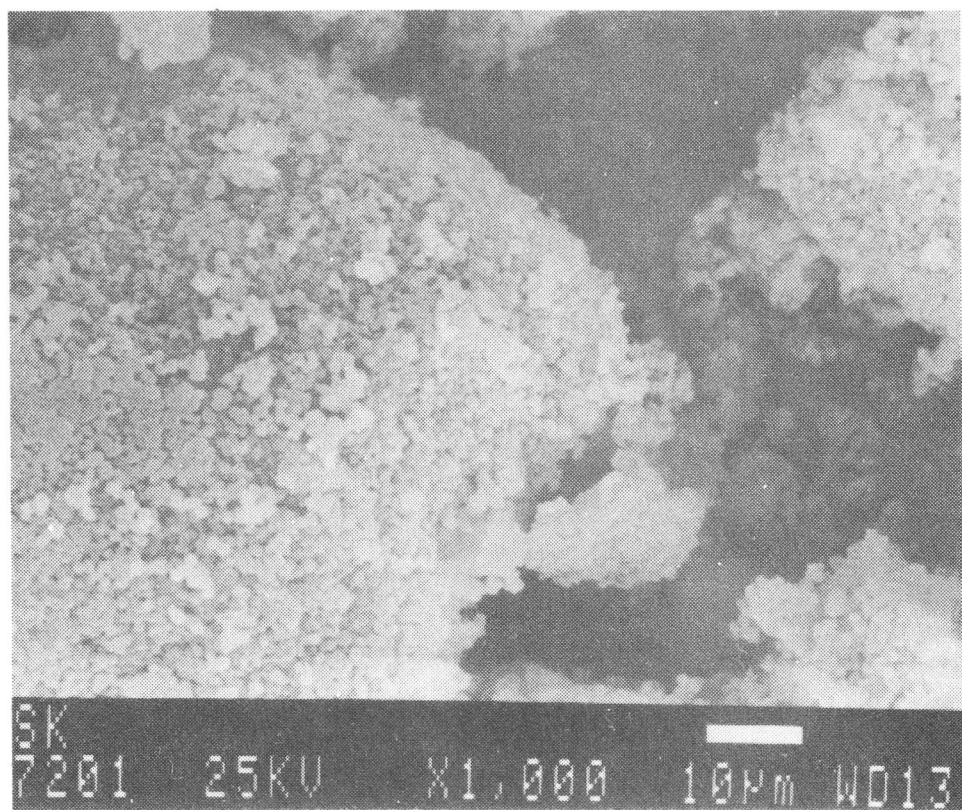
Okrem toho sme urobili mikroskopické snímky škrobových zŕn zo 4. spôsobu izolácie pri 320-násobnom zväčšení (obr. 1). Z obrázku vidieť, že zrná škrobu láskavca sú veľmi malých rozmerov. Podľa našich meraní priemer zrníek je 1 μm . Charakteristickou vlastnosťou láskavcových škrobových zŕn je vytváranie zhlukov (klustrov).

Snímky z tej istej vzorky škrobu, na ktorých vidno mikroštruktúru, sú vyhotovené na elektrónovej líniovej röntgenovej mikrosonde pri 1000-násobnom zväčšení (obr. 2) a 10 000-násobnom zväčšení (obr. 3).



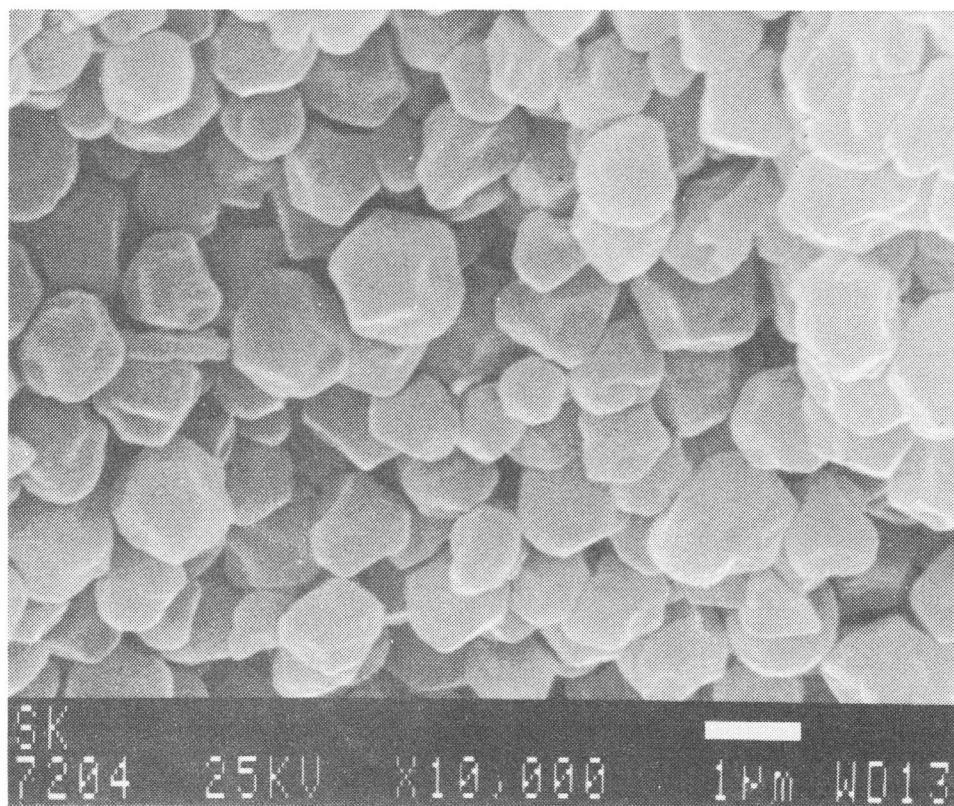
Obr. 1. Škrob zo zrna láskavca metlinatého (zväčš. 320 \times).

Fig. 1. Starch from amaranth grain (320 \times enlarg.).



Obr. 2. Mikrofotografia láskavcového škrobu urobená rastrovacou elektrónovou mikroskopiou (zväč. 1000×).

Fig. 2. Microphotograph of amaranth starch carried out by scanning electron microscopy (1000× enlarg.).



Obr. 3. Mikrofotografia láskavcového škrobu urobená rastrovacou elektónovou mikroskopiou (zváč. 10 000×).

Fig. 3. Microphotograph of amaranth starch carried out by scanning electron microscopy (10 000× enlarg.).

Literatúra

1. Mac MASTERS, M. M.—BAIRD, P. D.—HOLZAPFEL, M. M.—RIST, C. E., *J. Econ. Bot.* 9, 1955, s. 300.
2. GOERING, K. J., *Cer. Chem.*, 44, 1967, s. 245.
3. BECKER, R.—WHEELER, E. L.—LORENZ, K.—STAFFORD, A. E.—GROSJEAN, O. K.—BETSCHART, A. A.—SAUNDERS, R. M., *J. Food. Sci.*, 46, 1981, s. 1175.
4. ADKINS, G. K.—GREENWOOD, C. T., *Stärke*, 18, 1966, s. 213.
5. LORENZ, K.—COLLINS, K., *Stärke*, 33, 1981, s. 149.
6. SAUNDERS, R. M.—BECKER, R., In: *Advances in Cereal Science and Technology*, Vol. VI. V. Pomeranz (ed.). St. Paul, American Association of Cereal Chemists 1983, s. 368.

7. PAREDES-LÓPEZ, O.—CÁRABEZ-TREJO, A.—PÉREZ-HERERRA, S.—GONZÁLES-CASTAÑEDA, J., *Stärke*, 40, 1988, s. 290.
8. PARADES-LÓPEZ, O.—SHEVENIN, N. L.—HERNÁNDEZ-LÓPEZ, D.—CÁRABEZ-TREJO, A., *Stärke*, 41, 1989, s. 205.
9. BARBA DE LA ROSA, A. P.—PARADES-LÓPEZ, O.—CÁRABEZ-TREJO, A.—ORDO-RICA-FALOMIR, C., *Stärke*, 41, 1989, s. 424.
10. WANKHEDE, D. B.—GUNJAL, B. B.—SAWATE, R. A.—PATIL, H. B.—BHOSALE, M. B.—GAHILOD, A. T.—WALDE, S. G., *Stärke*, 41, 1989, s. 167.
11. CORTELLA, A. R.—POCHETTINO M. L., *Stärke*, 42, 1990, s. 251.
12. ČSN 560176. Metódy zkoušení škrobu. 1964.
13. Analytical Working Party of the Starch Experts Group of the European Starch Associations. *Stärke*, 39, 1987, s. 414.
14. SOUTHGATE, A. D.: Determination of food carbohydrates. London, Applied Science Publisher Ltd. 1976, 178 s.
15. BROWNE, C. A.—ZERBAN, F. W.: Physical and Chemical Methods of Sugar Analysis. 3rd ed. New York — London, John Wiley and Sons 1941, 1353 s.

Do redakcie došlo 31. 10. 1991

Isolation of starch in amaranth (*Amaranthus cruentus*) grain

Summary

We insulated starch from amaranth grain in 5 different ways. The highest starch recovery has been achieved using steeping in water at the temperature of 6—8°C, namely 59.36%. The purest starch was isolated by steeping in water at the temperature of 6—8°C and by purification process with NaCl, NaOH and ethanol (particularly meets the requirements for 1% protein content). It does not contain any fat.

Microscopic pictures at 320-fold enlargement, and with scanning electron microscopy, confirmed hexagonal shape of starch grains. Average grain size is 1 µm.

Изоляция крахмала из зерн Амаранта метлистого (*Amaranthus cruentus*)

Резюме

Мы изолировали крахмал из зерна Амаранта метлистого пятью разными методами. Самый большой выход крахмала мы получили методом замачивания в воде при температуре 6—8°C, 59,36%. Чистейший крахмал изолировался замачиванием в воде при температуре 6—8°C очисткой с NaCl, NaOH и этанолом (главным образом соответствует требованию 1% доле белков). Несодержит никакой жир.

Микроскопические фотоснимки при увеличении в 320 раз и растровой электронной микроскопией подтвердили гексагональную форму зернишек крахмала. Средняя величина зерн была 1 µm.