

## CERCETAREA CONȚINUTULUI ÎN PROTEINE A FRUNZELOR UNOR PLANTE DIN FLORA SPONTANĂ ȘI CULTIVATĂ

GHEORGHE ACATRINEI

The content in proteins of some plants in the spontaneous (The Căi-mani Mountains) and cultivated flora was researched between years 1986 - 1990.

The amount of proteins in the dry researched material varies in leaves depending on species, season and age.

The proteic content is big in plants of spontaneous flora which have the clorenchims developed (*Agrostis tenuis*, *Juncus trifidus*). In other plants as *Festuca ovina ssp. sudetica* and *Nardus stricta* which have mechanical tis-

sues developed and clorenchims duced, the amount of proteins is small.

In the spruce fir, plurianual leaver have 0,5 g. quantities of proteins in comparasion with those annual.

The biggest quantity of proteins (19,5-25,6%) is found in dry leaves of the crap plants.

The cause is the considerable development of the photosynthetic apparatus where almost all cells have numerous plastids and especially chloroplasts.

Frunzele unor plante verzi constituie surse de materii prime, care în urma unor procedee tehnologice adecvate pot duce la obținerea unor derivate proteice valoroase pentru alimentația omului și animalelor [11, 4, 14]. Proteinele din frunzele plantelor se găsesc dispuse în componenții celulari parenchimatici vii (nucleu, matrixul citoplasmatic, plastide, mitocondrii și în membranele tuturor organelor: vacuole, reticulul endoplasmatic, lizozomi, microtubuli, plasmalemă, peroxizomi, glioxizomi, mitocondrii, ribozomi etc.).

Cloroplastul reprezintă 25% din masa totală a frunzei. În cloroplast datorită membranelor tilacoidale conținutul proteic din greutatea uscată este de 35-55% [6]. Ele se aseamănă cu conținutul proteic de la microorganisme (bacterii 47-87%, drojdii 46-56%, mucegaiurile 20-40%, algele 40-65%). Intensitatea luminoasă optimă în timpul creșterii frunzelor stimulează diviziunea celulară și a cloroplastului, mărind numărul, volumul, suprafața și greutatea celulelor și a tuturor organelor celulare. De asemenea crește grosimea clorenchimului, numărul de cloroplaste, de ticoloide și de grane. Astfel se mărește conținutul proteic în frunze. Lumina albastră, stimulează sinteza proteinelor structurale citoplasmatică și determină un conținut proteic crescut. Frunzele proaspete de sfeclă de zahăr au 2,5% proteine, cartof 1,7%, mazăre 1,7%, lucernă 4,1%, trifoi 2,4%, iar frunzele uscate de lucernă au 17,8-25,3% proteine [7, 8, 11, 4]. Conținutul proteic al frunzelor este destul de mare dacă se compară cu cel din semințele și frunzele unor plante de cultură de exemplu: soia 38%, lupinul 35%, linteia 25%, bobul 24%, mazărea 24%, fasolea 23%. Cariopsele cerealelor au un conținut proteic mai mic, grâul 10-15%, orzul 10-14%, porumbul 7-13%, secara 9-14%, orezul 8-10% [7, 8].

Datorită importanței mari pe care o au proteinele ne-am decis să întreprindem studiul conținutului proteic al frunzelor unor plante din flora spontană a M-ților Călimani și din cea cultivată.

### Material și metodă de lucru

Ca material de experiență s-au folosit frunzele mai multor plante din flora spontană și cultivată (vezi tabelul nr. 1.2) în decursul celor cinci ani de studiu (1985-1990). Investigarea s-a întreprins asupra conținutului proteic din frunzele diferitelor specii, pe sezoane și pe categorii de vârstă, iar din plantele cultivate pe frunzele mature din timpul verii. Frunzele au fost uscate la temperatura de 60-70°C la termostat și apoi s-au păstrat la exicator. Din acest material proteinele au fost extrase folosindu-se metoda Pleșcov [12]. În acest sens s-au experimentat și s-au consultat și lucrările altor autori [9, 16, 2, 10, 15, 1, 5]. Pleșcov susține că pentru izolarea tuturor substanțelor proteice se folosesc soluții bazice unde majoritatea covârșitoare a proteinelor se solvă. Materialul vegetal cântărit se mojarază (homogenizează) într-o

soluție hidroxid de sodiu 0,2% sau bisulfid de sodiu 0,2% și cteva picături de alcool etilic.

Pentru controlul exactității metodei cu care am lucrat s-a folosit și metoda solubilității diferențiale a proteinelor în apă (albuminele), în soluții slabe de săruri neutre (globulinele), în alcool (prolaminele) și în soluții alcaline (glutelinele). Mojararea s-a făcut în soluții de 0,2% NaOH, folosind nisip purificat de Miorcani, timp de 0,5-1 oră. După mojararea materialului s-a degresat și s-a uscat, apoi s-a diluat în soluție de NaOH care s-a ținut 16-18 ore la frigider. Extractul de proteine se separă de sediment prin centrifugare. Supernatantul se colectează separat, iar sedimentul se diluează de 2-3 ori cu soluție de 0,2% NaOH, se agită bine și se centrifughează din nou. Supernatantul se pune în același vas. Această extracție cu soluție de NaOH urmată de centrifugare se repetă de 4-5 ori până dispar proteinele, fapt indicat de reacția Folin. Supernatantul colectat se tratează cu o soluție de HCl 1n, proteinele precipită. Soluția cu precipitat se centrifughează și se colectează sedimentul. Sedimentul se solvă din nou în soluție de NaOH după care se precipită cu HCl 1n și se centrifughează. Operația de solvire, precipitare și centrifugare se repetă de 2-3 ori. Sedimentul de la ultima centrifugare se amestecă cu puțină apă și se dializează în apă de robinet apoi în apă distilată, pentru îndepărtarea eventualelor aminoacizi liberi, săruri minerale etc. Conținutul sacilor de dializă se precipită în HCl 1n, se centrifughează, sedimentul se usucă, se cntărește.

*Extracția totală a fracțiunilor proteice* (albuminele în apă, globulinele în KCl-1M, prolaminele-alcool, glutelinele 0,2% NaOH) ct și extracția sumară a proteinelor depinde de buna lor mojarare, degresare și mai ales de interacțiunea prelungită a materialului vegetal cu solventul corespunzător (la frigider 16-18 ore). Date obținute prin metoda cu soluția de NaOH sunt edificatoare și se apropie de cele obținute prin izolarea fracțională. În biologia moleculară pentru studiul proteinelor virale materialul proteic (capside) este tratată cu soluții alcaline ce desfac legăturile labile dintre capsomere și le pun în libertate. Acelaș lucru se petrece și cu proteinele din lipoproteine, glicoproteine, membranele celulare, etc. Datorită acestui fapt în soluția 0,2% NaOH se solvă marea majoritate a proteinelor.

Bazați pe cercetările noastre făcute pentru extracția proteinelor din vâsc (la doctorat) din studiile repetate pentru concentrații virale de la cancerul viral de leziune la *Impatiens sultanii* unde secțiunile au fost tratate cu soluții de NaOH 0,05-0,2%. În acest mediu cristalii se hidratează, particolele virale

se distanțează, cristalii se măresc, se rotunjesc și dau reacție pozitivă pentru proteine. De asemenea bazați pe munca de durată în domeniul biologiei moleculare, am ajuns la convingerea că pentru extracția globală a proteinelor este bună această metodă în cazul în care avem de cercetat un material provenit de la mai multe specii și din anumite fenofaze de vegetație. Pentru testarea proteinelor s-au făcut reacții de testare (precipitare, culoare etc.).

### Rezultate

În urma studiului întreprins asupra conținutului de proteine din frunzele diferitelor specii de plante din flora spontană și cultivată rezultatele sunt diferite între specii, asociații, pe sezoane sau vârste (vezi tabelul nr. 1 și 2).

**TABELUL I - Determinarea conținutului proteic la frunzele unor plante din flora spontană a M-șilor Călimani 1986-1990**

Nr. crt.	Denumirea speciei	Conținutul în proteine la 100 g material uscat pe luni (sezoane)		
		22-23 VI	19-20 VII	9 IX
1	<i>Agrostis tenuis</i>	16,10	16,45	—
2	<i>Festuca rubra</i>	16,65	16,90	—
3	<i>Nardus stricta</i>	10,25	10,77	9,85
4	<i>Festuca ovina</i> ssp. <i>sudetica</i>	6,58	7,88	7,54
5	<i>Juncus trifidius</i>	5,37	6,97	6,91
6	<i>Juniperus communis</i> ssp. <i>nana</i>	12,52	—	—
7	<i>Rhododendron kotskii</i>	13,32	—	—
8	<i>Picea abies</i> (frunze anuale)	12,21	16,55	—
9	<i>Picea abies</i> (frunze pluri- anuale)	17,24	18,32	—

TABELUL II – Determinarea conținutului proteic din frunzele unor plante de cultură

Nr. crt.	Denumirea speciei	Conținutul în proteine la 100 g material uscat în lunile iunie-iulie
1	<i>Trifolium pratense</i>	21,96
2	<i>Spinacia oleracea</i>	23,20
3	<i>Rumex domesticus</i>	24,68
4	<i>Beta vulgaris</i>	25,60
5	<i>Allium cepa</i>	22,31
6	<i>Allium sativum</i>	19,50

Conținutul proteic din frunzele unor plante din pajiștile M-șilor Călimani este diferit după cum urmează:

Un conținut mare se observă la *Festuca rubra* (16,65-16,90%), *Agrostis tenuis* (16,10-16,45%), *Rhododendron kotskii* (13,32%), *Juniperus communis* ssp. *nana* (12,52%), *Nardus stricta* (10,25-10,77%). Un conținut mai scăzut de proteine s-a constatat în frunzele de *Festuca ovina* ssp. *sudetica* (6,58-7,88%), *Juncus trifidus* (5,37-6,97%). La molid frunzele de pe ramurile anuale au un conținut proteic de 12,24-16,55%, iar la cele plurianuale de 17,24-18,32%.

Frunzele de *Festuca rubra* și *Agrostis tenuis* au cantități mari de proteine care sunt date de volumul mare a clorochimului și a numărului mare de cloroplaste față de *Nardus stricta*. Conținutul cel mai mic de proteine este la *Festuca ovina* ssp. *sudetica* și *Juncus trifidus*.

O cantitate mare de proteine îl au frunzele plurianuale la molid (*Picea abies*) față de cele anuale. La plantele de cultură conținutul în proteine variază de la 19,50% usturoi (*Allium sativum*) până la 25,6% la sfecla de zahăr (*Beta vulgaris*). Este posibil ca la sfecla de zahăr conținutul în proteine să fie mai mare socotind și după numărul mare de cloroplaste din secțiunea transversală printr-o frunză.

## Concluzii

1. Cantitatea de proteine din materialul cercetat uscat variază în frunze în funcție de specie, sezon și de vârstă.
2. La plantele din flora spontană conținutul proteic este mare la speciile care au clorenchimul dezvoltat (*Agrostis tenuis*, *Festuca rubra*) și o cantitate mică la cele cu țesutul mecanic dezvoltat și cu clorenchim redus, ca la *Festuca ovina* ssp. *sudetica* și *Juncus trifidus*.
3. La molid (*Picea abies*) frunzele plurianuale au cantități mai mari de proteine față de cele anuale.
4. Cantitatea de proteine este cea mai mare în frunzele plantelor de cultură de la 19,5-25,6. Aceasta se datorește dezvoltării considerabile a aparatului fotosintetic unde aproape toate celulele au numeroase plastide și în special cloroplaste.

## BIBLIOGRAFIE

1. Acatrinei Gh., 1967 – Mehanizm delenia Kletki pod vlianiem fiziologhiceski aktivnh veșcestv extracta omel (*Viscum album* L) Lucrare publicată la Kiev.
2. Bailey J.L., 1967 – *Techniques in protein chemistry*. ed. II-a Elsevir Publishing co.
3. Beldie Al., 1977, 1979 – *Flora Romniei* vol. I, II, Ed. Academiei București.
4. Chrisman J., Kohler G., 1973 – *Industrie Alimentaire et Agricoles* t. 90,9-10.
5. Cecetkin A.V.e.a. 1980 – *Practicum po biohimii*, Iz. Vșaiia școla, Moskva.
6. Granic S., 1964 – *The Cell*, 489-603, Academic Press N. Y.
7. Inglett G.E., 1972 – Seed proteins in perspective. In: *Symposium seed proteins*, Westport Connecticut AVI Publishing.
8. Jansen G.R. 1972 – Seed as source of protein for humans. In: *Symposium seed proteins*, Westport, Connecticut AVI, Publishing, 352.
9. Konarev V.G., Tituerev S.L. 1970 – Metod biochimii i țitohimii nucleinovh kislot rasteonii. Iz. Kolos, Leningrad.
10. Lowry e.a. 1951 – *J. Biol. Chem.*, 193-256.
11. Pick-Seng-Iu, Kinsella S.E. 1972 – In: *Journal of Food Science* t. 37, 1, 54.
12. Plescov B.P. 1968 – *Practicum po biohimii rasteonii* Moskva 40.
13. Roșu E. e.a. 1972 – *Proteinele din furaje*. Editura Ceres, București.
14. Stancu M., Segal B. 1975 – *Surse noi de proteine*, Edit. tehn. București.
15. Winterfeld K., Selavry O., Grunthal M., Schwartz M., 1963 – *Arzneimittel-Forsch*, 13, 29-33.
16. Work T.S., Work. 1979 – *Laboratory techniques in biochemistry and molecular biology* vol. 7, North-Holland.