

Roman Gondko, Anna Rogala, Włodzimierz Michałak

ZAWARTOŚĆ WOLNYCH AMINOKWASÓW W MĄCZCE KRYŁOWEJ*

Określono zawartość wolnych aminokwasów w 26 próbkach mączki kryłowej otrzymanych podczas II Polskiej Wyprawy Antarktycznej. Wspólną cechą badanych próbek jest wysoka zawartość proliny i argininy oraz brak lub niewielka ilość histydyny, metioniny i cystyny. Stosowanie wysokiej temperatury i gotowanie w wodzie (technologia 4) powoduje znaczną utratę wolnych aminokwasów.

W ostatniej dekadzie podjęto szereg dążeń mających na celu przeciwdziałanie deficytowi białka zwierzęcego. Potencjalnym, takim źródłem biomasy są zasoby morza, do których należy między innymi wiele gatunków planktonowych skorupiaków, w tym głównie gatunek *Euphasia superba* (kryl). Istnieją duże trudności w przechowywaniu kryla ze względu na szybką jego autolizę oraz obecność w przewodzie pokarmowym fitoplanktonu, który może powodować psucie się masy kryłowej. Istotne są także znaczne kłopoty w usunięciu chitynowego pancerza. Kryl sprzedawany i konsumowany jest w całości (gotowany i mrożony) oraz jako mielona masa i pasta. Wyprodukowano też tzw. "odwłoki" - szejki kryłowe. Kryl stanowi samodzielny produkt lub dodatek do innych artykułów spożywczych. Produkcja mączki kryłowej na skalę przemysłową została podjęta w ZSRR, Japonii, RFN, Polsce i Chile [1].

Celem niniejszej pracy było określenie zawartości wolnych aminokwasów w próbkach mączki kryłowej, różniących się jakością surowca i sposobem produkcji.

*Niniejsza praca została wykonana w ramach problemu MR II/16.

MATERIAŁ

Materiał do badań stanowiła mączka kryłowa otrzymana podczas II Polskiej Wyprawy Antarktycznej. Do analizy na zawartość aminokwasów (AA) użyto 26 próbek zróżnicowanych tak pod względem jakości surowca (teren połowu, płeć zwierząt, ich stadium rozwojowe), jak i technologii produkcji.

Badana mączka otrzymywana była według czterech technologii różniących się zasadniczo sposobem gotowania:

- technologia 1 (T1) - temp. 48-55°C, gotowanie w parze wodnej,
- technologia 2 (T2) - temp. 55-70°C, gotowanie w parze wodnej,
- technologia 3 (T3) - temp. 53-62°C, gotowanie w parze wodnej,
- technologia 4 (T4) - temp. 95-98°C, gotowanie w wodzie.

METODY

Próbki mączki kryłowej poduszano do ustalenia stałego ciężaru w temp. 70°C przez 1 dobę. Odważki (100 mg) traktowano 7,5 ml wody destylowanej i pozostawiano na okres 1 doby (+5°C), a następnie dodawano 67,5 ml bezwodnego oziębionego etanolu. Ekstrakcję prowadzono przez 24 h w temp. +5°C z ciągłym mieszaniem. Osad odwirowywano (15 min, 3000 x g) i przemywano dwukrotnie 5 ml 90% etanolu. Supernatanty łączono, odparowywano do sucha, a pozostałość rozpuszczano w 7 ml buforu cytrynianowego o pH = 2,2. Próbkę tak przygotowanego ekstraktu poddawano rozdzielowi chromatograficznemu na drodze jonowymiennej chromatografii kolumnowej metodą Steina i Moore'a [2] przy użyciu automatycznego analizatora aminokwasów "Jeol". Stężenie aminokwasów wyrażono w µg/g mączki. W celu określenia różnic statystycznie znamiennych zastosowano test "t" Studenta.

WYNIKI

Wśród ninhydryno-pozytywnych związków obecnych w próbce mączki kryłowej na podstawie czasów retencji rozdziału wzorców zidentyfikowano wolne aminokwasy. Pomimo istnienia znacznych różnic między poszczególnymi próbkami wspólną ich cechą jest: 1) wysoka zawartość prolina (ok. 50%) i argininy (ok. 30%), 2) brak lub niewielka ilość takich aminokwasów jak histydyna, metionina, cystyna, 3) niewielka ilość glicyny i alaniny (5-10%), (tab. 1).

Tabela 1

Zawartość wolnych aminokwasów w mączce krylowej (µg/g mączki)

The content of free amino acids in krill powder
(in µg per g. of the krill powder)

Aminokwas	T1	T2	T3	T4
Liz	0,7523 ±0,2421	0,3127 ±0,0203	0,3804 ±0,0343	0,1780 ±0,0516
His	0,0128 ±0,0045	0,0082 ±0,001	0,0079 ±0,001	0,0073 ±0,001
Arg	3,878 ±0,910	2,482 ±0,195	3,637 ±0,397	2,364 ±0,776
Asp	0,153 ±0,029	0,085 ±0,009	0,094 ±0,009	0,056 ±0,012
Tre	0,314 ±0,078	0,151 ±0,014	0,161 ±0,012	0,087 ±0,025
Ser	0,275 ±0,033	0,142 ±0,023	0,169 ±0,009	0,094 ±0,028
Glu	0,249 ±0,072	0,128 ±0,032	0,156 ±0,022	0,083 ±0,014
Pro	5,833 ±0,338	3,680 ±0,360	5,081 ±0,734	3,311 ±0,876
Gli	1,405 ±0,228	0,899 ±0,075	1,178 ±0,106	0,623 ±0,295
Ala	1,127 ±0,168	0,672 ±0,065	0,799 ±0,062	0,413 ±0,128
Wal	0,540 ±0,138	0,352 ±0,094	0,270 ±0,029	0,109 ±0,050
Met	0,021 ±0,009	0,020 ±0,010	0,018 ±0,005	0,015 ±0,010
Ile	0,375 ±0,088	0,188 ±0,020	0,202 ±0,021	0,086 ±0,038
Leu	0,777 ±0,218	0,339 ±0,056	0,381 ±0,044	0,142 ±0,070
Tyr	0,264 ±0,044	0,170 ±0,026	0,207 ±0,017	0,082 ±0,040
Fen	0,312 ±0,083	0,140 ±0,026	0,172 ±0,029	0,071 ±0,039
Σ AA	16,389 ±1,929	9,660 ±0,782	12,888 ±1,330	7,705 ±2,420

Z różnorodnych parametrów charakteryzujących poszczególne mączki krylowe do porównania wybrano przede wszystkim technologie ich otrzymywania. Z danych umieszczonych w tab. 1 widoczne jest,

że najniższy poziom wolnych aminokwasów występuje w mączkach otrzymanych według T4 (Σ AA $7\mu\text{g/g}$ mączki), przy czym jest to ok. 2-krotny spadek w stosunku do T1. Potwierdza ten wniosek analiza statystyczna (tab. 2) - największa ilość różnic znamiennych statystycznie występuje między T1 i T4 oraz T3 i T4.

Tabela 2

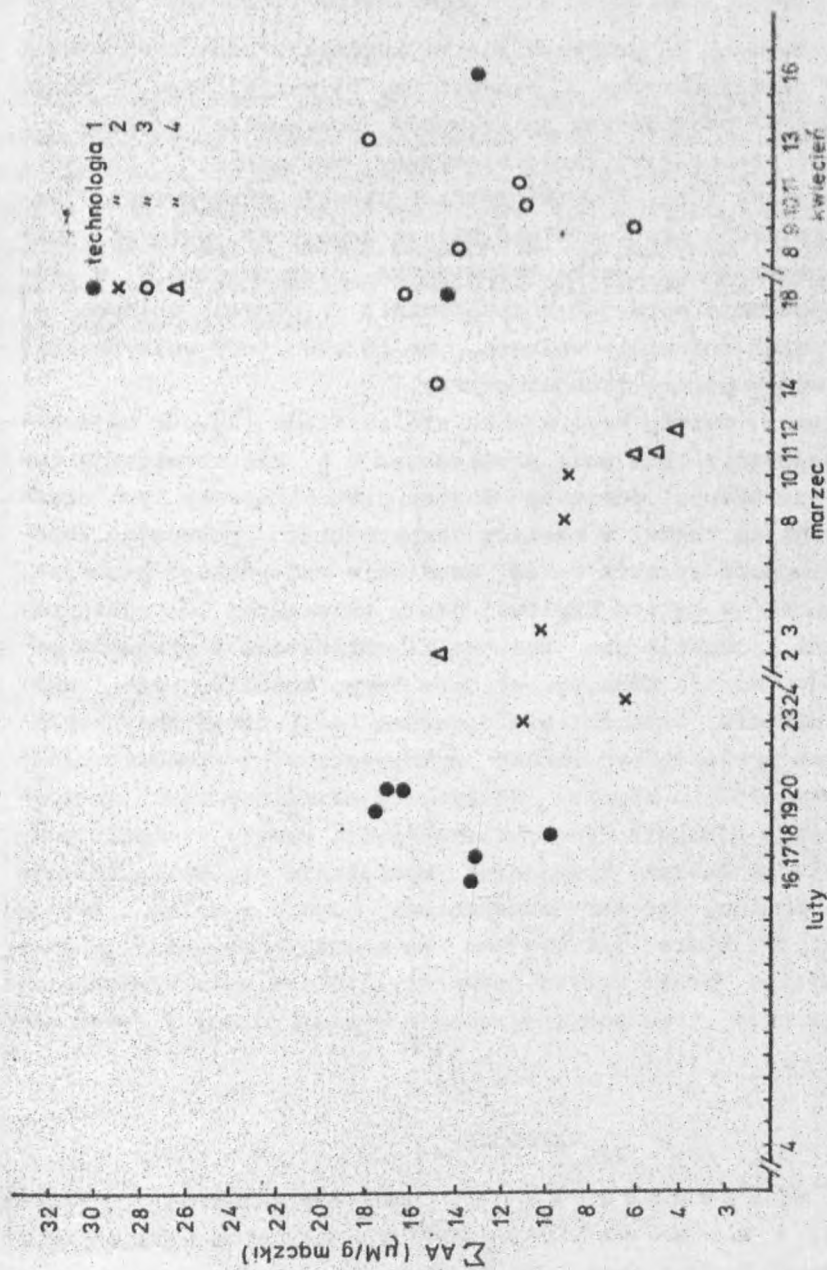
Analiza statystyczna (test "t" Studenta) zawartości wolnych aminokwasów mączki krylowej

Statistical analysis (Student's test)
of free amino acid content in krill powder,
prepared according to described four technologies

Aminokwas	T1-2	T1-3	T1-4	T2-3	T2-4	T3-4
Liz	-	-	-	-	+	***
His	-	-	-	-	-	-
Arg	***	-	+	+	-	-
Asp	-	-	-	-	-	*
Tre	-	-	-	-	+	***
Ser	***	***	***	-	-	***
Glu	-	-	-	-	-	-
Pro	***	-	***	-	-	-
Gli	-	-	-	-	-	-
Ala	-	-	-	-	-	*
Val	-	-	-	-	-	***
Met	-	-	-	-	-	-
Ile	-	-	-	-	+	***
Leu	-	-	-	-	-	***
Tyr	-	-	+	-	-	***
Phe	-	-	-	-	-	-
Σ AA	***	-	*	-	-	-

* - $p > 0,05$, ** - $p > 0,02$, *** - $p > 0,01$.

Z otrzymanych danych wynika ponadto, że termin połowu kryla (luty, marzec, kwiecień) pozostawał bez zasadniczego wpływu na ilość wolnych aminokwasów w próbkach mączki. Można dyskutować, czy niewielka liczba badanych próbek pozwala na postawienie tak sformułowanego ogólnego wniosku. Zawartość wolnych aminokwasów wyrażoną w postaci ich sumy w zależności od terminu odłowu ilustruje rys. 1.



Rys. 1

Zawartość aminokwasów (LAA) w sezonie połowowym kryla

The content of free amino acids (LAA) in krill powder according to the season of fishing of the krill

DYSKUSJA

W zanalizowanych 26 próbkach mączki krylowej zawartość wolnych aminokwasów jest niewielka i stanowi ok. 3% suchej masy. Wśród ogólnej liczby 17 oznaczanych aminokwasów dominowały prolina i arginina przy niewielkiej ilości histydyny, metioniny, cystyny, glicyny i alaniny (tab. 1). W próbkach mączki otrzymywanej według T4 stwierdzono ok. 2-krotnie niższą zawartość wolnych aminokwasów. Stosowana tu wysoka temperatura oraz gotowanie w wodzie prawdopodobnie sprzyja rozpuszczaniu i odmyciu wolnych aminokwasów. Stąd oczywisty wniosek, że na zawartość wolnych aminokwasów ma wpływ proces technologiczny.

Jak wiadomo, świeży kryl szybko się rozkłada [1], a najdłuższy czas składowania nie może przekraczać 4 h. Nie rozwiązuje tego problemu zamrażanie, ponieważ enzymy proteolityczne tych organizmów aktywne są także w niskich temperaturach powodując autolizę. Dużą trudność sprawia także usunięcie chitynowego pancerza, którego obecność w mączce krylowej paszy zwierzęcej nie jest raczej korzystna, podobnie jak resztki fitoplanktonu z przewodu pokarmowego [1]. Naszym zdaniem wysokie tempo autolizy nie musi powodować obniżenia wartości biologicznej (odżywczej) masy krylowej. Fakt ten powinien być raczej wykorzystany i stanowić ułatwienie w przyswojeniu białka. Należałoby określony czas składować kryla celem rozbicia jego białka przez enzymy proteolityczne (autoliza). W dalszej kolejności wyciskanie czy homogenizacja i wirowanie powinny dać nam supernatant bogaty w wolne aminokwasy i peptydy, które jak wiadomo są znacznie szybciej i łatwiej przyswajalne przez wyższe organizmy. Określenia wymagają optymalne parametry tego postępowania, a w szczególności czas autolizy.

LITERATURA

- [1] Rakusa-Suszczewski S., 1980, *Kryl*, Kosmos, XXIX, 1(162).
- [2] Stein W. H., Moore S., 1954, *The free amino acids of human blood plasma*, J. Biol. Chem., 211, (915).

Laboratorium Nauk Biologicznych
Uniwersytetu Łódzkiego

Roman Gondko, Anna Rogala, Włodzimierz Michalak

THE CONTENT OF FREE AMINO ACIDS IN THE KRILL POWDER

The content of free amino acids in 26 samples of the krill powder was estimated. The krill powder was prepared during Second Antarctic Expedition. The high content of two amino acids i.e. proline and arginine and also the lack or trace amounts of other amino acids i.e. histidine, methionine and cysteine were found in tested samples. The application of the high temperature and boiling in water (T4) caused the significant loss of free amino acids from the krill powder.