

TADEUSZ WITAS, JADWIGA WĘDZIŃSKA, EWA OLBROMSKA

Stężenie dwualdehydu malonowego oznaczane w obecności chityny w surowcach i paszach z kryłów

Z Instytutu Rybołówstwa Morskiego Wyższej Szkoły Morskiej w Szczecinie

Kryle (*Euphausiacea*) jako surowiec mrożony, w postaci paszowych sypkich koncentratów białkowych oraz innych mieszanych płynnych lub stałych produktów paszowych, stają się obiektem zainteresowań rybołówstwa, technologii przetwórstwa spożywczego i paszowego oraz higieny żywienia.

Obecność znacznych ilości nienasyconych kwasów tłuszczowych w tłuszczowcach kryla i karoteinoidów typu astaksantyny (3,3-dwuhydroksy-4,4-dwuketo- β -karoten), kryptoksantyny (3-hydroksy- β -karoten) oraz astacyny (5) powoduje rozwijanie się szczególnie szybko postępujących procesów oksydacji i kopolimeryzacji (7, 9). W wyniku procesów utleniania węglowodorów nienasyconych i ich rozpadu na jednostki pochodnych tlenowych malonianów następuje łańcuch interakcji ze związkami biogennymi (2, 3, 6). Procesy te mają rozległy charakter patogeny, mogą przebiegać w warunkach *in vitro* i *in vivo* (2, 9, 10). Powstające tłuszczowcowe ceroido-fuscynopodobne związki barwne są silnie kwasoodporne (1).

W pracy tej zbadano możliwości oznaczania stopnia oksydacji tłuszczowców metodą tiobarbiturową z hydrolizą alkaliczną w obecności chityny, zastosowane do kryłów i jego produktów, jako metody określania stopnia jakości tych substratów.

Materiał i metody

Kryl (*Euphausia superba*) mrożony, z łowisk Antarktydy z pozycji 56°19'S—33°4'W, mączka paszowa z kryłów, chityna, cz. Fluka A. G., Buchs S. G., chityna z kryłów po oczyszczeniu, kwas 2-tiobarbiturowy, cz. Fluka A. G., Buchs S. G., kwas solny cz. d.a., roztwory wodne, wodorotlenek sodu cz. d. a., roztwory wodne, chlorek sodu, cz. d.a., spektrofotometr „Spekol”, prod. NRD. Zestaw aparatury ze szkła do oddzielania dwualdehydu malonowego przez destylację pośrednią parą wodną oraz metodę reakcji barwnej opracowano już wcześniej (11).

Chitynę z kryłów otrzymano przez autohydrolizę enzymatyczną w ciągu 48 godz. w temp. 37°C. Po odsączeniu pancerzy, przepłukaniu wodnym roztworem 0,4% NaOH i zakwaszeniu do pH 7, masę przemylano 5-krotnie gorącą wodą. Po wysuszeniu w suszarce próżniowej w temp. 40°C w ciągu 2 godz., chitynę rozdrobniono na sucho w homogenizatorze i przesiano przez sito o oczku 0,4 mm. Chitynę Fluka A. G. rozdrobniono w podobny sposób. Następnie chitynę z kryłów i chitynę Fluka A. G. oddzielnie, poddano na ciepło wielokrotnej ekstrakcji: 5-krotnie izopropanolem oraz 5-krotnie mieszaniną metanolu z chloroformem w stosunku 2:1. Po wysuszeniu w warunkach jak wyżej podano, chitynę stanowi sypki proszek o lekko różowym zabarwieniu.

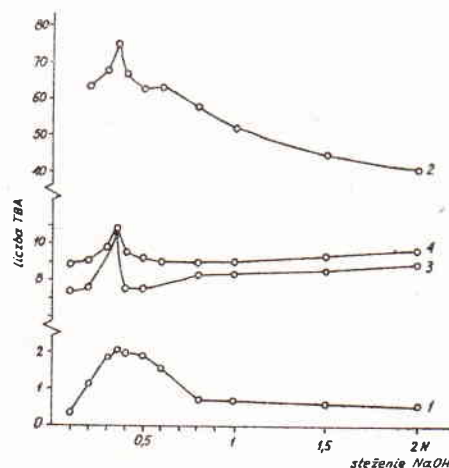
Wyniki i omówienie

Kryle są skorupiakami wód antarktycznych o następującym składzie chemicznym, zawierają: białka ogólnego ($N \times 6,25$) w granicach 11,9 — 15,3%, tłuszczów 1,1 — 7,2%, wody 72,0 — 83,1%, soli mineralnych 2,3 — 3,3%, węglowodanów 0,7 — 1,0% oraz chityny 0,7%. W suchej masie kryłów, która stanowi 13 — 23% występuje białka ogólnego ($N \times 6,25$) 50 — 80%, tłuszczów 7 — 34%, soli mineralnych 10 — 19%, węglowodanów 2 — 4% oraz chityny 3 — 5%.

W mączkach paszowych z kryłów zawartość tłuszczów waha się w granicach 5 do 12%, zaś chityny 2,5 — 4,5% (4, 8).

Chityna jest związkiem, N-acetylo- β -glukozaminą, odpornym na rozdrabnianie, szczególnie w stanie suchym. Kryle mrożone transportowane i przechowywane w temp. ca. -28°C przez 6 miesięcy oraz mączka paszowa z kryłów po takim samym okresie transportu i przechowywania w temperaturze w granicach od 25 do 45°C stanowią substraty zróżnicowane pod względem warunków utleniania tłuszczów.

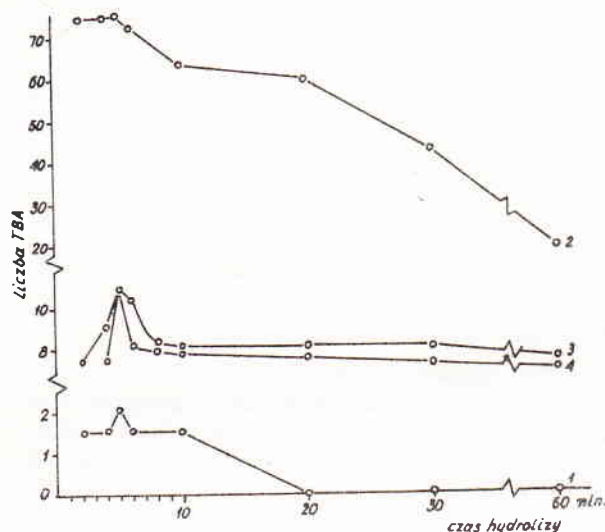
Warunki oznaczania stopnia utleniania tłuszczów przez określenie stężenia dwualdehydu malonowego metodą tiobarbiturową z hydrolizą alkaliczną dla surowca i produktu z kryłów oraz dla chityny przedstawiono na ryc. 1 — 4. Dla wybranych substratów najbardziej korzy-



Ryc. 1. Zależność poziomu uwalnianego dwualdehydu malonowego od stopnia hydrolizy alkalicznej substratów z kryłów

Objaśnienia: 1 = kryle mrożone; 2 = mączka z kryłów; 3 = chityna Fluka A. G.; 4 = chityna z kryłów.

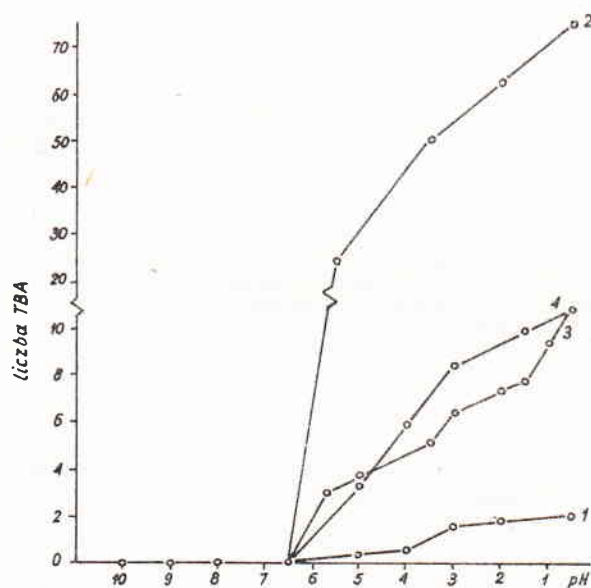
stnymi warunkami jest następujący sposób postępowania. Próbkę kryłów zamrożonych doprowadza się do temp. ca -5°C , rozdrabnia, jak produkty mięsne, przepuszczając farsz przez sito 2 mm (nie stosuje się homogenizacji na mokro). Maczki z kryłów nie rozdrabnia się. Próbkę do 1 g poddaje się hydrolizie alkalicz-



Ryc. 2. Zależność poziomu uwalnianego dwualdehydu malonowego od czasu hydrolizy alkalicznej substratów z kryłów

Objaśnienia: 1—4 jak na ryc. 1.

nej w 20 ml roztworu wodnego 0,35 N NaOH w ciągu 5 minut, tj. w punkcie maksymalnego uwalniania się i trwałości dwualdehydu malonowego (ryc. 1 i 2). Po ochłodzeniu hydrolizatu dodaje się 5—8 g NaCl cz.d.a. przeciw pie-



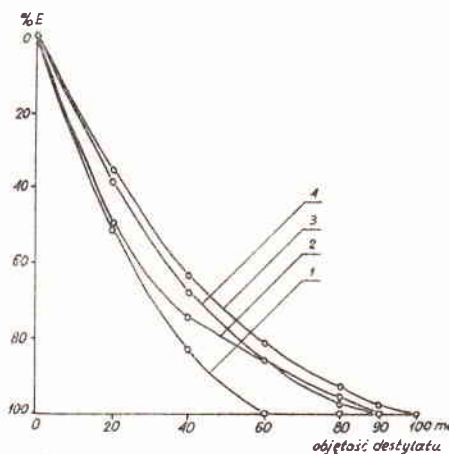
Ryc. 3. Zależność poziomu uwalnianego dwualdehydu malonowego od stopnia zakwaszenia zhydrolizowanych substratów z kryłów

Objaśnienia: 1—4 jak na ryc. 1.

nieniu i roztwór zakwasza się do ca pH 0,5 30 ml wodnym roztworem 0,35 N HCl. Następnie próbę poddaje się destylacji z parą wodną w celu całkowitego oddzielenia w roztworze wodnym dwualdehydu malonowego (ryc. 3 i 4).

Dane te, sposób wywoływania reakcji barwnej i wyrażenie wyników pokrywają się z parametrami ustalonymi w innej pracy (11).

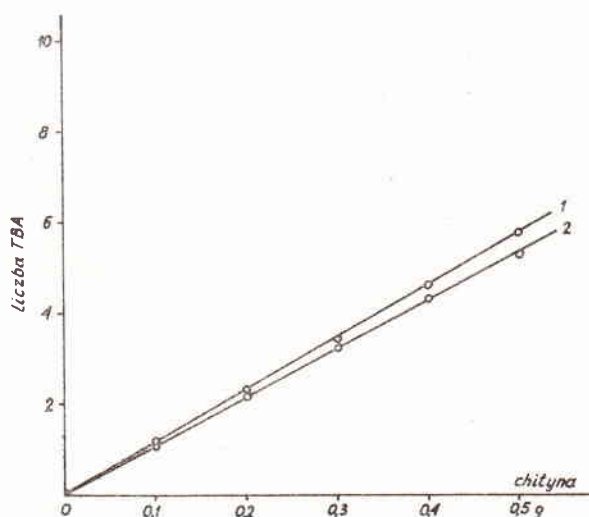
Chityna jako wielocukrowiec w warunkach metody uwalnia z reszt glukozy nieznaczne ilości dwualdehydu malonowego. Prawdopodobne jest, że reszty glukozy chityny uwalniane są pod wpływem działania enzymów hydroli-



Ryc. 4. Zależność poziomu uwalnianego dwualdehydu malonowego od stopnia destylacji prób substratów z kryłów

Objaśnienia: 1—4 jak na ryc. 1.

tycznych przed zamrożeniem kryłów lub w dalszych etapach jego transportu, bądź też w czasie obróbki przetwórczej w warunkach lądowych. Obecność uwalnianych reszt glukozy nie jest pożądana, szczególnie w produktach suchych, ze względu na kolejne, oprócz oksy-

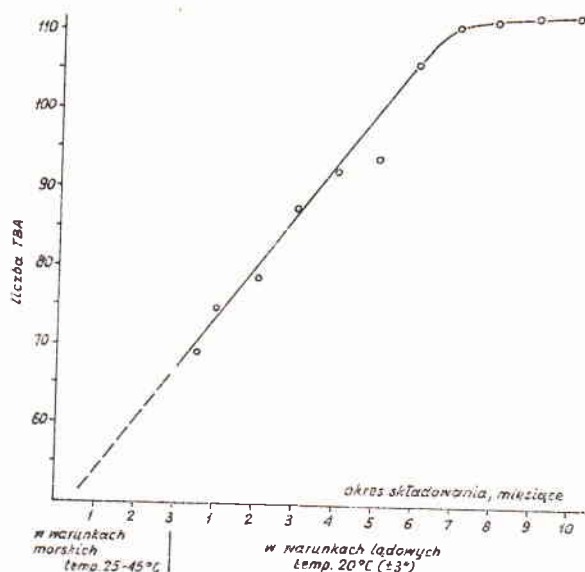


Ryc. 5. Zależność wzrostu stężenia dwualdehydu malonowego od zawartości chityny, jako diagram poprawek do ścisłego określania stopnia oksydacji tłuszczowców w surowcach i paszach z kryłów

Objaśnienia: 1 = chityna Fluka A. G.; 2 = chityna z kryłów.

datywnych zmian tłuszczowcowych, rozwijanie się procesów brunatnienia produktów w wyniku międzyreakcji reszt cukrowców z grupami aminowymi aminokwasów, peptydów i białek.

Reaktywność reszt cukrowcowych chityny jest wykrywana przez zastosowanie proponowanej metody. Stanowi powód wyznaczenia warunków hydrolizy alkalicznej chityny izolowanej z kryłów i chityny czystej preparatu Fluka A. G. Substraty te poddano analizie na obecność dwualdehydu malonowego w warunkach przedstawionych wyżej (ryc. 1—4). Właściwości fizyko-chemiczne związku uwalnianego z chityny, obserwowane w warunkach metody potwierdzają, że jest to dwualdehyd malonowy, najprawdopodobniej pochodzenia policukrowcowego lub karotenoidowego. Przyrost stężenia dwualdehydu malonowego w próbce jest zależny od stężenia chityny (ryc. 5).



Ryc. 6. Zmiany stopnia oksydacji tłuszczowców w paszowej mączce z kryłów podczas składowania

Objaśnienie: początkowy stopień oksydacji tłuszczu kryłów „świeżych” konserwowanych w formalinie wynosi 0,34 liczby TBA bez uwzględniania poprawki, która wynosi 0,08 liczby TBA przy 0,7% zawartości chityny. (Formalina nie przeszkadza w oznaczaniu).

Przyrosty wartości nie są znaczne. W zależności od celu i przeznaczenia wyników badań substratów z kryłów ściśle określenie stopnia zjełczenia oksydacyjnego tłuszczów jest możliwe przez dokonanie poprawki na obecność chityny w próbce na podstawie krzywej (ryc. 5). Wartości poprawek dla surowców i różnych produktów z kryłów mieszczą się w przedziale od 0,07 liczby TBA do ca 0,6 liczby TBA, co w przypadku wielu asortymentów nie ma większego praktycznego znaczenia, gdyż, jak to widać w przypadku mączki paszowej z kryłów (ryc. 6), wartości poprawki nie są wielkie w porównaniu do stopnia oksydacji tłuszczów

mączki. W ocenie jakości surowców i produktów z kryłów, zdaniem autorów, poprawka ze względu na obecność chityny nie musi być podejmowana, ponieważ szkodliwość dwualdehydu malonowego dla organizmów żywych, bez względu na jego pochodzenie, jest powszechnie uznana (1, 2, 3, 6, 7, 9, 10).

Wnioski

1. Metoda tiobarbiturowa z hydrolizą alkaliczną jest przydatna do oznaczania stopnia oksydacji tłuszczowców w surowcach i produktach z kryłów.

2. Chityna, uznana jako związek przeszkadzający w oznaczaniu stopnia oksydacji tłuszczowców, wymaga wniesienia poprawki rzędu 0,07 0,6 liczby TBA w zależności od procentowej zawartości chityny.

3. Przy określaniu jakości substratów z kryłów, z uwagi na szkodliwość dwualdehydu malonowego, niezależnie od jego pochodzenia, wyniki nie muszą uwzględniać poprawki z powodu obecności chityny.

Piśmiennictwo

1. Casselman B. W. G.: J. Exptl. Med. 6, 549, 1951.
2. Chio K. S., Tappel A. L.: Biochem. 7, 2327, 1969.
3. Karel M.: J. Food Sci. 38, 756, 1973.
4. Karnicki Zb.: Komunikaty Technologiczne nr 19, MIR, Gdynia, 1976.
5. Larry D., Salwin H.: J. Assoc. Off. Anal. Chem. 3, 681, 1966.
6. Lindelov F.: Bull. Inter. Inst. Refrig., Melbourne, 1, 181, 1976.
7. Roubal W. T., Tappel A. L.: Arch. Biochem. Biophys. 113, 150, 1966.
8. Schreiber W.: Allg. Fisch. Z. 12, 4, 1976.
9. Tappel A. L.: Am. J. Clin. Nutr. 8, 1137, 1970.
10. Tonna E. A.: J. Gerontol. 6, 3, 1975.
11. Witas T.: Roczn. Technol. Chem. Żywn. 3—4, 271, 1972.

Adres autora: doc. dr inż. Tadeusz Witas, ul. Podhalańska 3 m. 5, 70-452 Szczecin.

Витас Т., Вендзиньска Я., Ольбромска Э. — Концентрация малонового диальдегида, определяемая в присутствии хитина в сырье и кормах из крилов.

Исследовались возможности и было признано целесообразным применение тиobarbitурового метода со щелочным гидролизом для определения степени окислации липидов в сырье и продуктах из крилов, метода, определяющего качество этих субстратов. Хитин, признанный соединением, мешающим в определении, требует внесения поправки порядка 0,07 до 0,6 числа TBA или обходиться без нее.

Witas T., Wędzińska J., Olbromska E. — Malondialdehyde concentration determined in the presence of chitin in the raw materials and krill feeders.

Out of different methods tested it was recognized as suitable the application of thiobarbituric method with alkaline hydrolysis for the determination of the degree of oxidation of lipids in raw materials and products obtained from krill. Chitin was recognized as a compound disturbing the process of determination. It is necessary to correct the TBA number (correction was 0.07 to 0.6) or its use without any correction.