

FISCH ALS LEBENSMITTEL

Bittergeschmack in Rohkrillfarce

Gefroster Krill, wie auch aus ihm hergestellte Rohfarcen, zeigen nach dem Auftauen gelegentlich einen bitteren Geschmack (SCHREIBER et al., 1981). Ursache hierfür könnte die Aktivität krillleigener Proteasen sein, die den Abbau von Eiweißstoffen zu niedermolekularen Peptiden und Aminosäuren katalysieren. So haben umfangreiche Untersuchungen von BELITZ et al. (1979) gezeigt, daß es Peptide gibt, die einen stark bitteren Geschmack aufweisen. Es interessierte daher, ob der gelegentliche Bittergeschmack in Krillfarcen auf die Anwesenheit von Peptiden zurückzuführen ist. Das Fernziel einer Untersuchung und ggf. Identifizierung solcher bitter schmeckenden Substanzen ist es, durch Änderung der Verarbeitungsbedingungen die Bildung dieser Verbindungen zu verhindern und so das Auftreten von Bitterkeit in den Erzeugnissen aus Krill zu vermeiden.

Untersucht wurde eine Farce aus Rohkrill, der im Februar 1981 auf dem FFS "Walther Herwig" unzentrifugiert in einer Hammermühle zerkleinert worden war, und die dann in einer Dekanterzentrifuge von Schalen befreit wurde (CHRISTIANS et al., 1982). Sie wurde in einem Haushaltsmikrowellenherd aufgetaut, der zur Vermeidung von lokalen Überhitzungen nur für dreimal 10 sec eingeschaltet wurde (mit jeweiligem Drehen der Probe). Nach dem Auftauen wurde die Farce 24 h bei + 4°C aufbewahrt und dann gefriergetrocknet. Das so erhaltene Pulver bestand zu etwa einem Drittel aus Protein und Peptiden (bestimmt nach LOWRY), ferner konnten ca. 12% dunkelorange farbenes Öl mit Petrolether extrahiert werden.

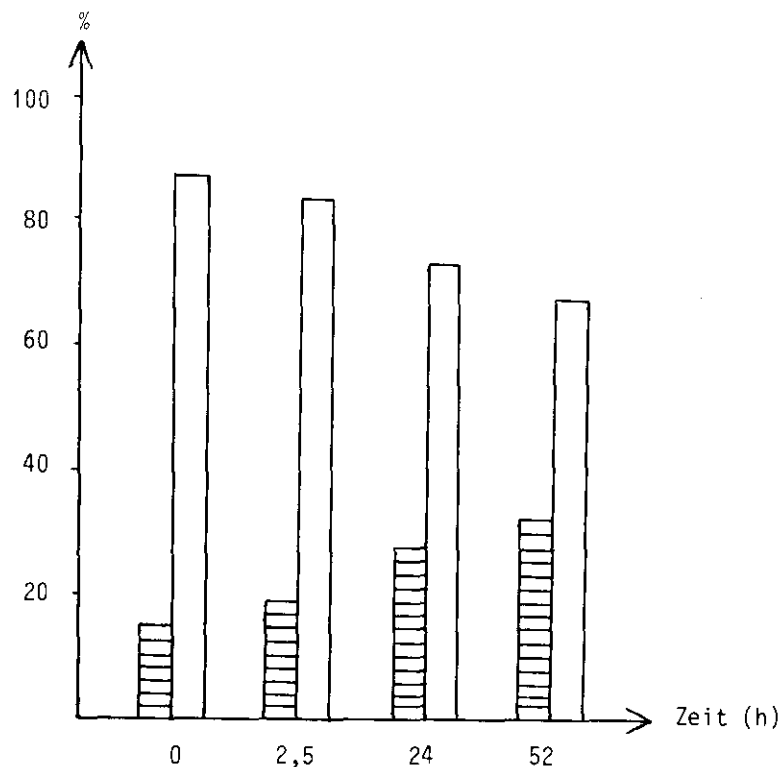
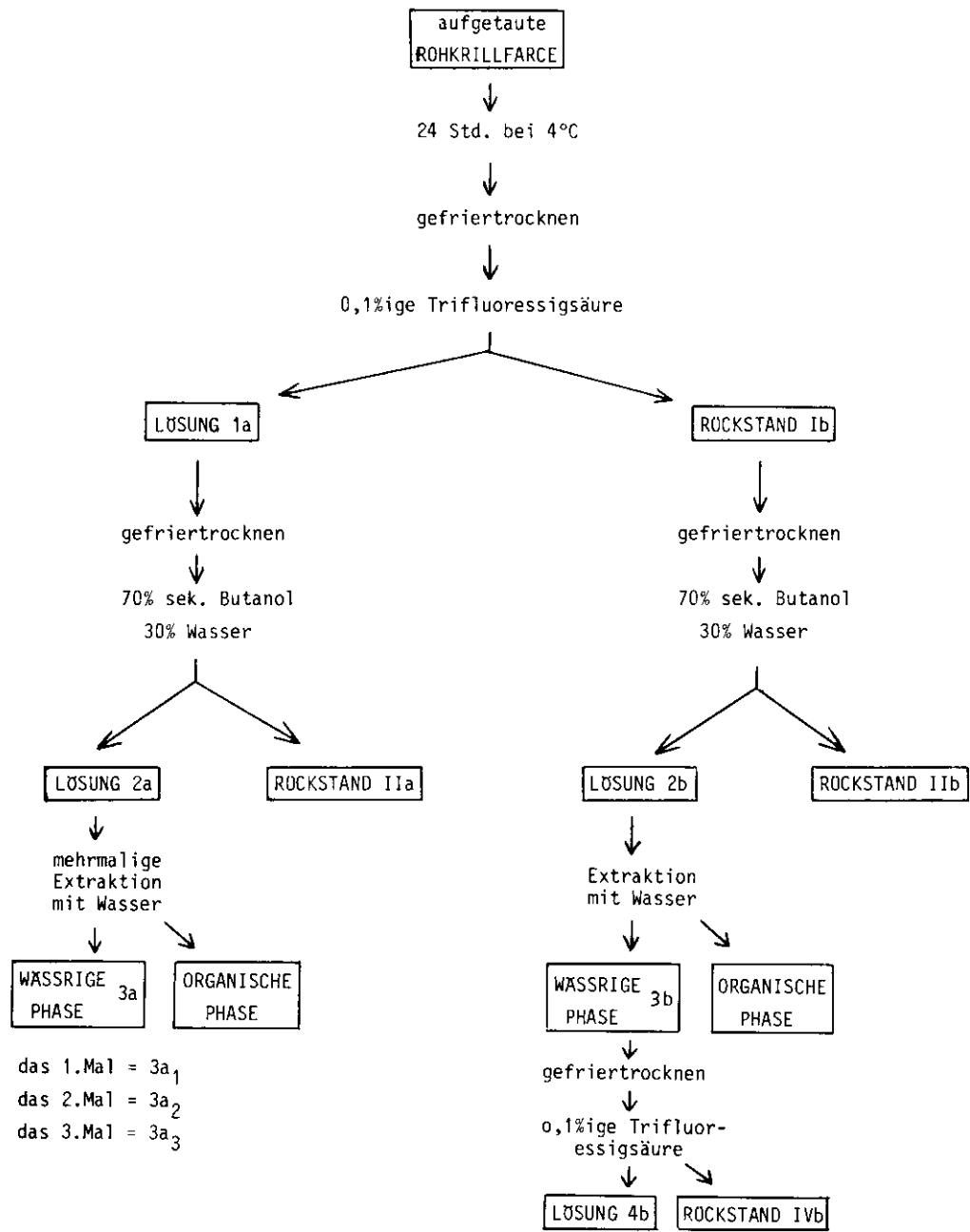


Abb. 1: Proteaseaktivität in Rohfarce
(schraffierte Säulen = TCA-lösliches Protein;
leere Säulen = TCA-unlösliches Protein;
Proteinbestimmung nach LOWRY,
100% = gesamtes Protein)



das 1. Mal = 3a₁
 das 2. Mal = 3a₂
 das 3. Mal = 3a₃

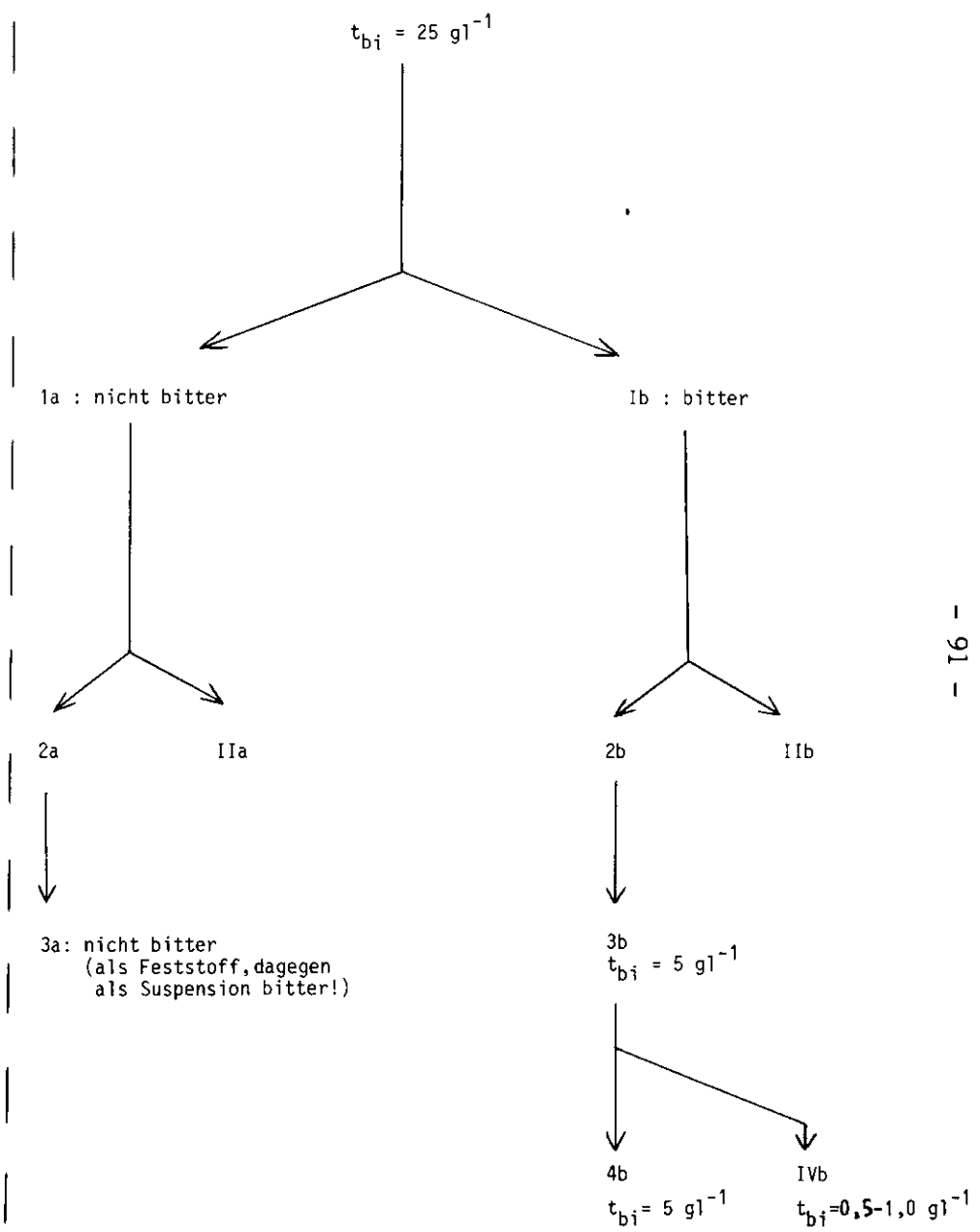


Abb. 2: Trennschema für die Isolierung von Bitterstoffen aus aufgetauter Rohkrillfarce (t_{bi} = Schwellenwerte)

Zunächst einmal wurde eine starke proteolytische Aktivität in den Farcen nachgewiesen (Abb. 1). Sodann wurde festgestellt, durch welche Lösungsmittel der bittere Geschmack aus dem gefriergetrockneten Farcepulver entfernt wurde: dabei zeigte sich, daß der lipophile Petrolether - aber auch eine 1:1 Mischung aus Methanol und Wasser - einen noch bitteren Rückstand ergaben, während Lösungsmittel für Peptide und Aminosäuren - wie 0,5%ige Trifluoressigsäure, Wasser, mit Wasser gesättigtes sek. Butanol - zu einem kaum bitteren Rückstand führten. (Angemerkt sei allerdings, daß die Rückstände direkt sensorisch geprüft wurden; wie es sich später zeigte, ist eine vorherige Suspendierung in Leitungswasser erheblich günstiger für die Erkennung eines Bittergeschmackes).

In der Folge wurde dann versucht, durch Extraktion lyophilisierter Rückstände und auch durch Verteilen zwischen den beiden Phasen eines sek. Butanol-Wasser-Systems zu Fraktionen zu gelangen, in denen der Bittergeschmack angereichert sein würde (dieses letztgenannte, zweiphasige System soll nach LALASIDIS und SJÖBERG (1978) geeignet sein, bittere Peptide mit hydrophobem Charakter zu isolieren). Das angewendete Trennschema ist in der Abbildung 2 gezeigt, ebenso wie die Schwellenwerte für den Bittergeschmack, soweit sie in Konzentrationsreihen sensorisch bestimmt wurden. Zum Vergleich sei angegeben, daß L-Tyrosin einen Schwellenwert von $0,9 \text{ g l}^{-1}$ und einige Peptide von ca. $0,1 \text{ g l}^{-1}$ aufweisen (BELITZ et al., 1979). Deutlich wird, daß das Extraktionsverfahren zu einer starken Anreicherung des Bittergeschmacks führte, wie die einzelnen Schwellenwerte der in der Sensorik beurteilten Proben zeigen. Bei der Verkostung der Fraktion 3a als Suspension tritt ein Bittergeschmack erneut auf, nachdem die vorhergehende Fraktion 1a bitterfrei gewesen war: entweder ist die geänderte Verkostungsform dafür ausschlaggebend, oder der Bittergeschmack an dieser Stelle ist auf in 1a noch enthaltene, restliche proteolytische Aktivität zurückzuführen. Der niedrige Schwellenwert für IVb könnte auf ein Peptid hindeuten.

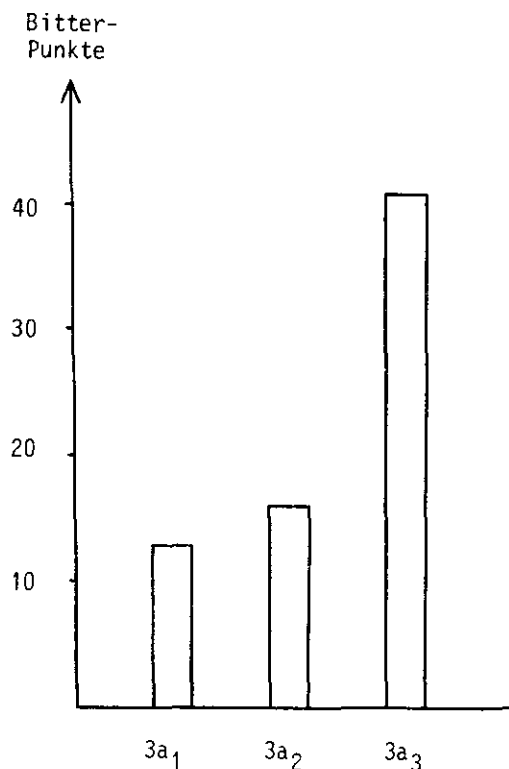


Abb. 3: Bitterkeit in den wäßrigen Extrakten der Lösung 2a (10 mg der gefriergetrockneten Rückstände gelöst in 1 ml Wasser; 3 Prüfer, "stark bitter" 16, "bitter" 8, "schwach bitter" 4 Punkte)

Ein anderer, sehr interessanter Befund ergab sich, als die Zugabe von Wasser zur Lösung 2a, Verteilung zwischen den Phasen und Abtrennung der wäßrigen Phase 3a mit insgesamt 4 Portionen erneuter Wasserzugabe wiederholt wurde: wird die Bitterkeit der ggf. zu zweit vereinigten Fraktionen von 3 Prüfern getestet und ihre Intensität durch die Werte 4 für "schwach bitter", 8 für "bitter", 16 für "stark bitter" ausgedrückt, so ergibt sich die in Abb. 3 gezeigte Rangfolge. Sie kann leicht erklärt werden, wenn man annimmt, daß die Bitterkeit eines Stoffes x in der Lösung 3a durch einen zweiten Stoff y sensorisch maskiert wird und dieser Stoff y etwas leichter als x mit Wasser extrahiert wird, mit anderen Worten also etwas hydrophiler als x ist.

Die Fraktionen 3a, 4b und IVb wurden weiterhin peptidchemisch analysiert. Hierzu wurde das gefriergetrocknete Material in 70% Ameisensäure aufgenommen. Die in diesem Lösungsmittel gelösten Substanzen wurden durch HPLC (RP-C18 Säule) weiter aufgetrennt, wofür ein Acetonitrilgradient in 0,1% Trifluoressigsäure eingesetzt wurde. Die bei 210 nm detektierte Absorption des Eluats wurde aufgezeichnet. Alle Peaks wurden quantitativ auf die Anzahl freier Aminogruppen (o-Phthalaldehyd-Reaktion) und Eiweißmenge (LOWRY-Reaktion) untersucht. Von besonderem Interesse war dabei die Analyse der Fraktion IVb. Diese Fraktion, die mit einem Schwellenwert von 0,5-1 g l⁻¹ die bei weitem stärkste Anreicherung der Bitterstoffe enthielt, war frei von Peptiden. Im Eluat dieser Fraktion konnte nur die freie Aminosäure Tyrosin eindeutig nachgewiesen werden. Tyrosin scheidet jedoch als Verursacher des Bittergeschmacks aus, wie umfangreiche sensorische Kontrollexperimente ergaben: Zu als "nicht bitter" verkosteten Krillproben wurde Tyrosin in definierten Mengen zugegeben. Nie erlangte dabei durch den Tyrosin-Zusatz eine als "nicht-bitter" verkostete Probe die Eigenschaft "bitter". Auch wenn Tyrosin allein als Festsubstanz oder suspendiert in verschiedenen Konzentrationen in Leitungswasser verkostet wurde, empfanden die Prüfer keinen Bittergeschmack bei der Sensorik.

Die geschilderten Ergebnisse zeigen, daß für eine Identifizierung der bitter schmeckenden Substanzen weitere Abtrennungs- und Reinigungsschemata zu erarbeiten sind.

Unabhängig von den vorstehend geschilderten, analytischen Untersuchungen wurde parallel auch die zentrifugale Abtrennung der Bestandteile des Verdauungstraktes des Krill betrieben, um so den Gehalt an Inhaltsstoffen aus den sekretorischen Organen des Krill und seiner Nahrung in der Rohfarce zu senken. Diese Bemühungen führten zur weitgehenden Abtrennung der Verdauungsenzyme (nachgewiesen an Hand der Höhe der proteolytischen Aktivität) und zu einer generellen Qualitätsverbesserung der Rohfarce: diese zeigten selbst nach Einfrieren und Auftauen keine bitteren Geschmacksnoten (KARL et al., 1986).

Zitierte Literatur:

BELITZ, H.-D. et al.: Sweet and bitter compounds: Structure and taste relationship. In BOUDREAU, J.C. (ed.): Food taste chemistry. ACS Symposium Ser. (115), Washington 1979. p. 93-131.

CHRISTIANS, O. et al.: Verarbeitung und Produktentwicklung. Arch. FischWiss. 33 (Beih.1): 143-170, 1982.

KARL, H. et al.: Continuous processing of raw Antarctic krill into food products for human consumption on a pilot plant scale. Arch. FischWiss. 37 (Beih.1): 187-198, 1986.

LALASIDIS, G.; SJÖBERG, L.-B.: Two new methods of debittering protein hydrolysates and a fraction of hydrolysates with exceptionally high content of essential amino acids. J. Agric. Food Chem. 26: 742-749, 1978.

SCHREIBER, W. et al.: Die Verarbeitung von Krill zu Lebensmitteln. Hamburg: BFA f. Fischerei, Inst.f.Biochem. u. Technol. 1981.

P. Nahke, W. Schreiber und B. Orlick
Institut für Biochemie und Technologie
Hamburg