

## METABOLIZM LIZYNY. PO PODANIU SZCZUROM BIAŁEK OGRZEWANYCH Z GLUKOZĄ

*Grzegorz Raczyński*

Dyrektor Instytutu: prof. dr J. Kielanowski  
Instytut Fizjologii i Żywienia Zwierząt PAN, Jabłonna koło Warszawy

Wśród badaczy panuje zgodny pogląd, że oddziaływanie cukru redukującego na białko w wysokiej temperaturze jest szkodliwe z punktu widzenia jego wartości odżywczej. Ford i Salter [2] twierdzą, że temperatura działa w nieznaczny sposób na skład aminokwasowy białka, natomiast wyraźnie wpływa na sposób jego trawienia i przez to powoduje znaczne straty w dostępności różnych aminokwasów dla organizmu. Carpenter i wsp. [1] oraz Grau i wsp. [3] wykazali, że można obniżyć wartość odżywczą białka stosując jedynie drastyczne warunki ogrzewania; krótkie działanie temperatury nie uszkadza ich.

W niniejszej pracy starano się zbadać wpływ czasu ogrzewania białka z glukozą na przebieg jego trawienia oraz na wydalanie produktów trawienia ze szczególnym uwzględnieniem metabolizmu lizyny pochodzącej z tego białka. Do badań użyto kazeinę oraz albuminę jaja, które poddano działaniu glukozy w wysokiej temperaturze w sposób opisany poniżej.

Do określonej ilości białka dodano tyle glukozy, aby na każdą cząsteczkę lizyny przypadł 1 mol cukru. Następnie białko zmieszano z wodą w ilości odpowiadającej końcowemu stężeniu białka w roztworze ok. 20%. Tak przygotowaną mieszaninę ogrzewano w temperaturze 120°C w ciągu 1 lub 5 godz. W celach porównawczych ogrzewano w taki sam sposób białka bez dodatku glukozy. Po ostudzeniu mieszaninę reakcyjną przemyto trzykrotnie etanolem i jednokrotnie eterem. Białka suszono i przewietrzano w temperaturze pokojowej, po czym rozdrabniano je i przechowywano w eksykatorze w temperaturze 5°C. W tak otrzymanych preparatach oznaczono azot ogólny i dostępną lizynę metodą Rao i wsp. [6], a otrzymane wyniki przedstawiono w tabeli 1.

Badania przebiegu trawienia białek przeprowadzono na dorosłych szczurach-samcach rasy Wistar o ciężarze 280-320 g. Pojedyncze osobniki umieszczano w klatkach zapobiegających koprofagii i po 18 godz. głodzenia podawano im dawkę doświadczalną w ilości 4 mg/g ciężaru ciała, w skład której wchodziło 20% badanego białka. W 90 min od momentu podania diety, zwierzęta anestezjowano i po otwarciu jamy brzusznej wypreparowywano im jelito cienkie. Treść jelita wypłukiwa-

Tabela 1

Zawartość dostępnej lizyny w różnie spreparowanych białkach  
The content of available lysine in the proteins treated in different ways

Białka Proteins	Sposób przygotowania Treatment	Azot ogólny w suchej masie Total nitrogen in dry matter %	Lizyna dostępna Available lysine g/16 g N	Spadek zawartości lizyny dostępnej Decrease in available lysine %
Kazeina Casein	nieogrzewana — none	14,78	6,64	—
	ogrzewana 1 godz. 120 °C heated 120 °C, 1 h	14,70	6,22	6,4
	ogrzewana z glukozą 1 godz. 120 °C heated with glucose 120 °C, 1 h	14,51	5,68	14,5
	ogrzewana 5 godz. 120 °C heated 120 °C, 5 h	14,82	5,93	10,7
	ogrzewana z glukozą 5 godz. 120 °C heated with glucose 120 °C, 5 h	14,41	3,48	47,6
	nieogrzewana — none	14,42	5,62	—
Albumina jaja Egg albumin	ogrzewana 1 godz. 120 °C heated 120 °C, 1 h	14,30	5,15	8,4
	ogrzewana z glukozą 1 godz. 120 °C heated with glucose 120 °C, 1 h	14,22	4,78	14,9
	ogrzewana 5 godz. 120 °C heated 120 °C, 5 h	14,40	4,51	19,8
	ogrzewana z glukozą 5 godz. 120 °C heated with glucose 120 °C, 5 h	14,16	3,38	39,9

no 70-80 ml roztworu solanki, chłodzono i natychmiast odwirowywano. Płyn z nad osadu traktowano w analizach jako treść rozpuszczoną jelita cienkiego. Każde z badanych białek podano 6-7 szczurom, a z zebranej treści przygotowano próbę zbiorczą. W celu zbadania szybkości proteolizy część próby zbiorczej poddano rozdzielni na kolumnie wypełnionej Sephadexem G-25. W wyniku rozdzielni otrzymano frakcję wysokocząsteczkową zawierającą białka i peptydy oraz frakcję niskocząsteczkową składającą się z aminokwasów. We frakcjach tych oznaczono po kwaśnej hydrolizie azot aminowy metodą Moore'a i Steina [5]. Na tej podstawie obliczono szybkość uwalniania aminokwasów w wyniku trawienia różnych białek. Wyniki przedstawiono w tabeli 2. Otrzymane dane wskazują, że godzinne ogrzewanie białka samego bądź z glukozą nie miało

żadnego wpływu na szybkość uwalniania się aminokwasów w przewodzie pokarmowym. Dopiero 5-godzinne działanie temperatury w obecności glukozy spowodowało znaczne zahamowanie szybkości hydrolizy białka do wolnych aminokwasów.

We frakcji wysokocząsteczkowej (otrzymanej po rozdziale na Sephadexie) oznaczono również dostępną lizynę wg Roacha i wsp. [7]. Z oznaczeń tych wynika (tab. 3), że po 90 min przebywania w przewodzie pokarmowym, procentowa zawartość wolnych grup  $\epsilon$ -aminowych lizyny, kazeiny ogrzewanej przez 1 godz. oraz kazeiny ogrzewanej z glukozą, jest taka jak w kazeinie nieogrzewanej, traktowanej jako białko kontrolne. W przypadku albuminy podobny wynik otrzymano dla białka ogrzewanego przez 1 godz. bez glukozy. Porównując te dane z wynikami oznaczenia dostępnej lizyny w białkach (tab. 1) można przypuszczać, że podczas trawienia białek ogrzewanych przez 1 godz. zablokowane grupy  $\epsilon$ -aminowe lizyny zostały uwolnione w przewodzie pokarmowym szczurów. Ilość dostępnej lizyny w białkach ogrzewanych 5 godz. z glukozą, wyraźnie maleje w stosunku do białek nieogrzewanych (tab. 1) i stosunek ten utrzymuje się nadal podczas trawienia tych białek (tab. 3). Na podstawie wyników zilustrowanych w tabelach 2 i 3 można sądzić, że powodem wolniejszej proteolizy białek ogrzewanych 5 godz. z glukozą, było uniedostępnienie wiązania peptydowego lizyny dla trypsyny, enzymu, który nie hydrolizuje tego wiązania przy grupie karboksylowej lizyny, jeśli ta ostatnia ma związaną grupę  $\epsilon$ -aminową [4].

Wydalenie lizyny oraz jej strawność podczas żywienia szczurów dietą zawierającą białko ogrzewane w ciągu 5 godz. bez i z dodatkiem glukozy oznaczono w doświadczeniu bilansowym, które przeprowadzono zgodnie z zaleceniami podanymi w instrukcji Instytutu Żywienia Zwierząt w Rostocku. W czasie doświadczenia zwierzęta trzymano pojedynczo w klatkach metabolicznych w ciągu 10 dni i żywiono dietą doświadczalną zawierającą 1,5% N ogólnego, w ilości 15 g suchej masy dziennie na sztukę. W ciągu okresu właściwego trwającego 6 dni, kontrolowano spożycie paszy i przeprowadzono kolekcję kału i moczu. Mocz i kał zbierano do 0,01% roztworu tymolu w 0,5 M roztworze HCl. Do analiz przygotowano próby zbiorcze dla każdej grupy białkowej. W moczu oznaczono lizynę ogólną przez zhydrolizowanie części próby zbiorczej w 6 N HCl oraz wolne grupy  $\epsilon$ -aminowe lizyny, adaptując do tego celu metodę Rao [6]. W kale oznaczono lizynę ogólną po hydrolizie odpowiedniej ilości próby zbiorczej w 6 N HCl.

Wyniki bilansu lizyny podano w tabeli 4. Na podstawie otrzymanych danych można stwierdzić wyraźny wzrost wydalania lizyny w kale szczurów żywionych dietą zawierającą białka ogrzewane z glukozą. Pomimo tego pozorna strawność aminokwasu była wysoka. Przyjmując wartości strawności pozornej otrzymane dla białek nieogrzewanych za 100, to dla preparatów kazeiny otrzymamy odpowiednio 99 i 92%, a dla ogrzewa-

Tabela 2

Zawartość azotu aminowego we frakcji wysoko- i niskocząsteczkowej treści rozpuszczonej jelita cienkiego po podaniu szczurom diet zawierających różnie spreparowane białka. Podane wartości wyrażono w mg izoleucyny/mg N ogólnego treści

The content of amino nitrogen in high and low molecular fractions of the soluble intestinal contents in rats given experimental diets. Results are expressed in mg isoleucine/mg of total nitrogen

Białka Proteins	Sposób przygotowania Treatment	Frakcja — Fraction		Suma Total	Azot aminowy frakcji niskocząste- czkowej w % sumy Amino nitrogen in the low molecular fraction as % of total
		wysokoczą- steczka high molecular	niskoczą- steczka low molecular		
Kazeina Casein	nieogrzewana — none	3,10	5,38	8,48	63,4
	ogrzewana 1 godz. 120°C heated 120°C, 1 h	2,40	5,13	7,53	68,1
	ogrzewana z glukozą 1 godz., 120°C heated with glucose 120°C, 1 h	2,94	5,57	8,51	65,4
	ogrzewana 5 godz. 120°C heated 120°C, 5 h	3,49	4,20	7,69	54,6
	ogrzewana z glukozą 5 godz., 120°C heated with glucose 120°C, 5 h	3,19	2,79	5,98	46,7
	Albumina jaja Egg albumin	nieogrzewana — none	2,30	5,31	7,61
ogrzewana 1 godz. 120°C heated 120°C, 1 h		2,24	4,11	6,35	64,7
ogrzewana z glukozą 1 godz., 120°C heated with glucose 120°C, 1 h		2,57	5,19	7,76	66,9
ogrzewana 5 godz. 120°C heated 120°C, 5 h		3,78	4,34	8,12	53,4
ogrzewana z glukozą 5 godz. 120°C heated with glucose 120°C, 5 h		3,59	4,20	7,79	53,9

Tabela 3

Zawartość lizyny dostępnej we frakcji wysokocząsteczkowej treści rozpuszczalnej jelita cienkiego po podaniu szczurom diet zawierających różnie spreparowane białka

The content of available lysine in high and low molecular fractions of the soluble intestinal contents in rats given the experimental diets

Białka Proteins	Sposób przygotowania Treatment	Lizyna dostępna w % lizyny ogólnej Available lysine as % of total	Spadek zawartości lizyny dostępnej w % Decrease of available lysine in %
Kazeina Casein	nieogrzewana — none	85,7	—
	ogrzewana 1 godz. 120 °C heated 120 °C, 1 h	84,2	1,8
	ogrzewana z glukozą 1 godz. 120 °C heated with glucose 120 °C, 1 h	85,4	0,4
	ogrzewana 5 godz. 120 °C heated 120 °C, 5 h	72,9	14,9
	ogrzewana z glukozą 5 godz. 120 °C heated with glucose 120 °C, 5 h	59,2	30,9
Albumina jaja Egg albumin	nieogrzewana — none	93,2	—
	ogrzewana 1 godz., 120 °C heated 120 °C, 1 h	95,0	+1,9
	ogrzewana z glukozą 1 godz. 120 °C heated with glucose 120 °C, 1 h	78,3	16,0
	ogrzewana 5 godz., 120 °C heated 120 °C, 5 h	84,2	11,6
	ogrzewana z glukozą 5 godz., 120 °C heated with glucose 120 °C, 5 h	67,0	28,2

nych albumin, 94 i 90%. Wyniki te świadczą, że prawie cała lizyna pochodząca z tych białek przechodziła do krwiobiegu. Wydalanie lizyny w moczu było niskie i w skrajnych przypadkach stanowiło ok. 3% lizyny pobranej.

W tabeli 5 przedstawiono formy w jakich lizyna była wydalana w moczu. Po podaniu szczurom białek nieogrzewanych w moczu zostaje wydalone prawie 100% lizyny posiadającej wolną grupę  $\epsilon$ -aminową. Podawanie białek ogrzewanych przez 5 godz. powoduje zanikanie wolnych grup  $\epsilon$ -aminowych do około połowy w przypadku kazeiny, a do 70% w przypadku albuminy. Natomiast po spożyciu kazeiny ogrzewanej z glukozą prawie 80% lizyny wydalonej w moczu ma zablokowaną grupę  $\epsilon$ -aminową, dla odpowiedniej albuminy wartość ta wynosi ok. 50%. Z otrzymanych wyników dla strawności lizyny i jej wydalania w moczu można wnioskować, że peptydowe wiązanie lizyny w białku może ulegać hydrolizie w jelicie nawet wtedy, gdy jej  $\epsilon$ -aminowa grupa jest związana i że w tej formie przechodzi ona poprzez ściankę jelita do krwi.

Tabela 4

Bilans lizyny u szczurów żywnych dietami zawierającymi różnie spreparowane białka. Podane wartości wyrażono w mg/24 godz./szt.

The balance of lysine in rats fed the experimental diets. Results are expressed in mg/day/rat

Białka Proteins	Sposób przygotowania Treatment	Liczba zwierząt Number of animals	Lizyna — Lysine					strawność pozorna apparent digestibility
			pobrana intake	w moczu in urine	w kale in feces	strawiona absorbed	zatrzymana retained	
Kazeina Casein	nieogrzewana — none ogrzewana 5 godz., 120 °C heated 120 °C, 5 h	7 7	121,3 121,3	0,93 2,34	8,10 9,35	113,2 112,0	112,3 109,7	93,3 92,3
	ogrzewana z glukozą 5 godz., 120 °C heated with glucose 120 °C, 5 h	7	121,3	4,06	16,94	104,4	100,3	86,1
Albumina jaja Egg albumin	nieogrzewana — none ogrzewana 5 godz., 120 °C heated 120 °C, 5 h	6 7	113,0 113,0	1,71 1,54	9,97 16,62	103,0 96,4	101,3 98,4	91,2 85,3
	ogrzewana z glukozą 5 godz., 120 °C heated with glucose 120 °C, 5 h	7	113,0	2,08	20,79	92,2	90,1	81,6

Tabela 5

Wydalenie lizyny w moczu szczurów żywionych dietami zawierającymi różnie spreparowane białka. Podane wartości wyrażono w mg/24 godz./szt.

Lysine excreted in urine of rats fed the experimental diets. Results expressed in mg/day/rat.

Białka Proteins	Sposób przygotowania Treatment	Liczba zwierząt Number of animals	Lizyna — Lysine				dostępna w % ogólnej available as percent of total
			ogólna total	wolna free	oznaczona metodą Rao measured by Rao method	dostępna available	
			A	B	A + B		
Kazeina Casein	nieogrzewana — none ogrzewana 5 godz., 120 °C heated 120 °C, 5 h	7 7	0,93 2,34	0,19 0,19	0,78 1,03	0,97 1,22	104,3 52,1
	ogrzewana z glukozą 5 godz., 120 °C heated with glucose 120 °C, 5 h	7	4,06	0,27	0,62	0,89	21,9
Albumina jaja Egg albumin	nieogrzewana — none ogrzewana 5 godz., 120 °C heated 120 °C, 5 h	6 7	1,71 1,54	0,20 0,18	1,46 0,95	1,66 1,13	97,1 73,3
	ogrzewana z glukozą 5 godz., 120 °C heated with glucose 120 °C, 5 h	7	2,08	0,22	0,92	1,14	55,8

Na podstawie przeprowadzonych doświadczeń można stwierdzić, że związana lizyna w pozycji  $\epsilon$  nie jest wydalana w całości w moczu i w związku z tym musi ulegać dalszym przemianom w organizmie. Interesujące jest, czy lizyna z zablokowaną grupą  $\epsilon$ -aminową odgrywa rolę w biosyntezie białka.

#### LITERATURA

1. Carpenter K. J., Ellinger G. M., Shrimpton D. H., 1954. Proc. Nutr. Soc. 13, XX.
2. Ford J. E., Salter D. W., 1966. Br. J. Nutr. 20, 843.
3. Grau C. R., Karrick N. L., Lundholm B. D., Barends R. N., 1960. Comm. Fish Rev. 22, 12.
4. Hill R. L., 1965. Adv. Protein Chem. 20, 37.
5. Moore S., Stein W. H., 1954. J. Biol. Chem. 211, 907.
6. Rao S. R., Carter F. L., Frampton V. L., 1963. Anal. Chem. 35, 1927.
7. Roach A. G., Sanderson P., Williams D. R., 1967. J. Sci. Agric. 18, 274.

*G. Raczyński*

#### МЕТАБОЛИЗМ ЛИЗИНА У КРЫС КОРМЛЕННЫХ НАГРЕВАННЫМИ БЕЛКАМИ С ГЛЮКОЗОМ

##### Резюме

Проведенные исследования показывают, что нагревание казеина и альбумина с глюкозой в темп. 120°C в течение одного часа не имеет влияния на понижение скорости переваривания этих белков как и не изменяет переваривания лизина крысами по сравнению с ненагретыми белками.

Нагревание этих белков в течение 5 часов в темп. 120° С вызывает торможение скорости их протеолиза у крыс как и удаление с мочой лизина с блинкированной группой  $\epsilon$ -аминовой.

*G. Raczyński*

#### METABOLISM OF LYSINE IN RATS GIVEN PROTEINS HEATED WITH GLUCOSE

##### Summary

Casein and egg albumin that had been heated with glucose for 1 h at 120°C before being fed to rats showed no differences in their rates of digestion, nor in the digestibility of their lysine, as compared with the unheated proteins. However, after 5 h heating with glucose the rate of digestion was reduced, and analysis of the urine showed a marked increase in the content of lysine of which a high proportion was blocked at  $\epsilon$ -position as judged by the Rao method.