

# IZOMFEHÉRJE MENNYISÉGI MEGHATÁROZÁSA KÜLÖNBÖZŐ EREDETŰ FEHÉRJÉT TARTALMAZÓ TERMÉKEKBEN

Gábor Miklósné dr.—Vámos Károlyné dr.

## 1. BEVEZETÉS

A növekvő fehérjeigény kielégítésére világszerte egyre erősödik az az irányzat, hogy a növényi fehérjéket élelmiszerek dúsítására, illetve az izomfehérje részleges helyettesítésére használják. Shelef és Marton adatai szerint darált hús és vágdalt hús esetében a hús 30%-a is helyettesíthető hidratált szójakészítményekkel, és az így nyert terméket a fogyasztók elfogadják (1).

Táplálkozási szempontból a hús és hústermékek legfontosabb alkotórésze a fehérje. Az összfehérjetartalom meghatározásával azonban nem jellemezhető kielégítően a húsipari termékek minősége. Az összfehérje a termékben két különböző fehérje-összetevőt jelenthet, az önmagában is összetett húsf fehérje rész és az olcsóbb növényi eredetű fehérjék csoportját. A kétféle komponens aminosav-összetételben és ezzel együtt biológiai értékben lényegesen eltér egymástól. A készítmények különböző eredetű fehérjetartalmának megállapítására olyan vizsgálati módszerre van szükség, amely reprodukálható eredményeket ad, egyszerűen, gyorsan kivitelezhető, és ipari ellenőrző vizsgálatokban alkalmazható.

A nem hús eredetű fehérjék vizsgálatára javasolt módszerek például gélkromatográfia, hisztokémiai festés, akrilamid gélelektroforézis munkaigényes és hosszú eljárások, rutinszerűen nem alkalmazhatók.

Az összfehérjékben a másik komponens, a húsf fehérje közvetlenül vagy közvetett módon határozható meg. A közvetlen módszer a különböző eredetű, eltérő oldékony-ságú fehérjék oldási frakcióinak Kjeldahl szerinti mérésén alapul.

A közvetett eljárásnál a húsf fehérje valamely komponensének mérésére vezethető vissza a mennyiségi meghatározás.

Kísérleti munkánkban az állati és növényi fehérjék egymás melletti szelektív meghatározását a húsf fehérje kreatintartalmának mérésére alapoztuk. Az élő izomban a kreatinnak 70%-a kreatinfoszfát alakjában van jelen. Ez olyan labilis vegyület, amely a testen kívül már 20 perc alatt kreatinra és foszforsavra esik szét, így a holt izomban is, a bekövetkező pH csökkenés hatására gyorsan elbomlik (4., 5.).

A kreatinfoszfát kreatinként meghatározott bomlástermékei a sovány húspan meglehetősen állandó mennyiségben vannak jelen, ezt alig befolyásolja az állat neme és kora. A növényi fehérjék ezeket nem tartalmazzák.

A kreatintartalom fotometriásan mérhető, mivel az alfa-naftol-diacetil reagensekkel létrejövő színreakció intenzitása a koncentrációval szoros korrelációt mutat.

A reakciót 1938-ban írták le először, azóta számos, a reakciókörülmények módosítására vonatkozó közlemény jelent meg, ami arra utal, hogy a kémiai átalakulás mechanizmusa nem eléggé ismeretes (2.). A meghatározás tanulmányozása közben

## 1. TÁBLÁZAT

### *Különböző izmok kreatintartalma marhahúsbán*

| Az izom megnevezése | mg/g kreatin | %<br>össznitrogén |
|---------------------|--------------|-------------------|
| Adductor            | 4,06         | 11,7              |
| Gastrocnemius       | 4,06         | 11,7              |
| Gluteus medius      | 3,66         | 11,1              |
| Gracilis            | 3,85         | 11,5              |
| R. femoris          | 3,60         | 11,0              |
| Semimembranosus     | 3,84         | 11,3              |
| Semitendinosus      | 3,86         | 11,5              |

problémát okozott az a tény, hogy az irodalom ellentmondásos adatokat közöl az egyéb guanidino-vegyületek (pl. arginin) zavaró hatásáról. Egyesek szerint ezek a vegyületek szintén szinképződést okoznak az alfa-naftol-diacetil reakcióban, s így hibaforrásként lépnek fel a kreatin meghatározásánál.

Wong részletesen vizsgálta a kísérleti paraméterek hatását a kreatin meghatározására, más guanidino vegyületek mellett. Úgy találta, hogy az idő, a hőmérséklet, hullámhossz és alkoholkoncentráció játszanak fontos szerepet. Alkohol távollétében a kreatin, guanidin, arginin egyaránt reagálnak az alfa-naftol-diacetil reagensekkel, piros szín kialakulása közben, de leggyorsabban a kreatin képez intenzív színt. A hőmérséklet csökkentésével a reakció lelassul, de az említett vegyületeknél nem azonos mértékben. Szobahőmérsékleten, alkoholmentes közegben vezetve a reakciót, 20 perc elteltével csak a kreatin eredményez mérhető extinkciót (9). Növényi és más kevésbé értékes fehérjék mellett az értékes izomszövet, kreatintartalom alapján történő meghatározását az teszi lehetővé, hogy a növényi fehérjék nem tartalmaznak kreatint, tehát a reakcióval kialakított szín intenzitása az izomszövet mennyiségével lesz arányos (3).

A meghatározás elve az, hogy ismert összetételű állati és növényi fehérjét tartalmazó minták kreatintartalmát fotometriásan mérjük a kapott extinkciót az izomszövet Kjeldahl szerint mért nitrogéntartalmának függvényében ábrázolva, kalibrációs egyenest szerkesztünk. Ennek segítségével a vizsgálandó minta hasonló módon mért kreatintartalmából az értékes izomfehérjetartalomra következtethetünk.

Az irodalomban fellelhető marhahúsról vonatkozó vizsgálatokat (3) kiterjesztettük sertéshúsról, sertéshús-marhahús keverékre, továbbá összevetettük a nyers és hőkezelt minták analízisével kapott adatokat.

## 2. KÍSÉRLETI RÉSZ

### 2.1 Mintakészítés

Vizsgálatainkhoz hús és szója különböző arányaiból mintasort készítettünk, hőkezeletlen és hőkezelt változatban. A marha, illetve sertés különböző izmaiból darált húst készítettünk. A modellekhez aznap reggel levágott állatokból származó húsokat használtunk. A húsokat az inaktól, felületi kötőszövetből, zsírtól, faggyútól megtisztítottuk, és ledaráltuk.

A növényi fehérje preparátumot kétszeres tömegű vízzel hidratáltuk és a darált hús 20, 40, 60, 80%-át helyettesítettük vele. A mintákat alaposan elkevertük, felét hőkezeltük, felét kifagyasztva tároltuk  $-18^{\circ}\text{C}$ -on mérésig.

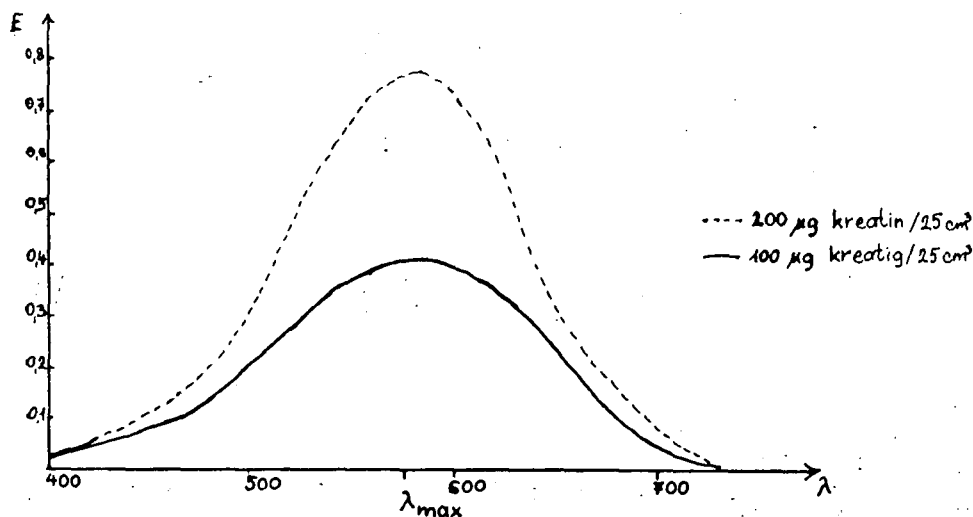
A kifagyasztott mintákat felengedés előtt apró kockákra vágostuk, majd dörzsmozsárban összetörtük, hogy a kreatinvesztés elkerüljön.

## 2.2 Felhasznált anyagok

Triklórecetsav, 10 g/100 cm<sup>3</sup> víz ← (TCA),  
Nátrium-hidroxid — nátrium-karbonát pufferoldat  
(60 g NaOH + 160 g Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>/1000 cm<sup>3</sup> víz),  
α-naftol oldat (1 g 100 cm<sup>3</sup> pufferoldatban oldva, frissen készítve),  
Diacetil 0,1 g/100 cm<sup>3</sup> víz ← (frissen készítve),  
Kénsav, cc., a.l.t.,  
Roncsolókeverék (K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, Se, CuSO<sub>4</sub>),  
HCl: 0,1 n,  
NaOH: 0,1 n,  
NaOH: 33 g/100 cm<sup>3</sup> víz  
Kvarchomok, a.l.t.,  
Marhacomb, sovány,  
Sertéscomb, sovány,  
Szója koncentrátum, GL-750 70%, (Central Soya Company, USA),  
Nátrium-kazeinát, EM-HV (Zuid-Nederlandische Melkindustrie).

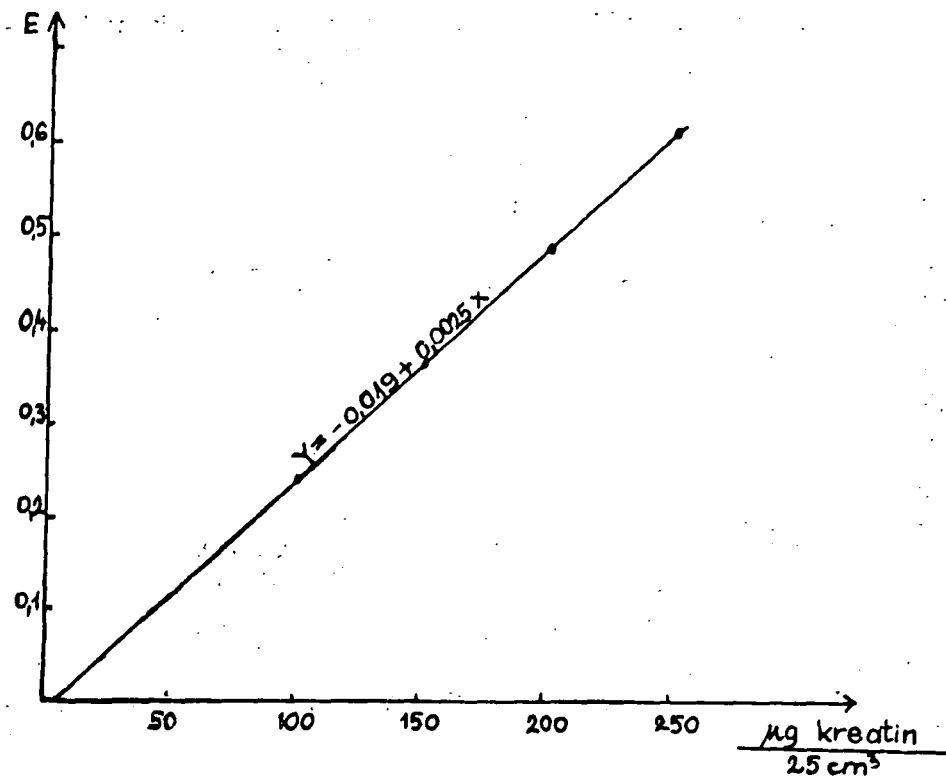
## 2.3 A mérési hullámhossz meghatározása, kalibrációs egyenes felvétele

Az alfa-naftol-diacetil reakcióban keletkezett színes komplex spektrumát mutatja az 1. ábra.



1. ábra. Alfa-naftol-diacetil-reakcióban keletkezett színes komplex spektruma

50 mg %-os kreatin törzsoldatból kiindulva 50 és 250 μg koncentráció intervallumban vettük fel a kreatintartalom koncentráció összefüggést.



2. ábra. Kreatin kalibrációs egyenes

A kreatintartalom és az általa kialakult szín intenzitása között lineáris összefüggés van, a regressziós egyenes egyenlete:

$$Y = -0,019 + 0,025X.$$

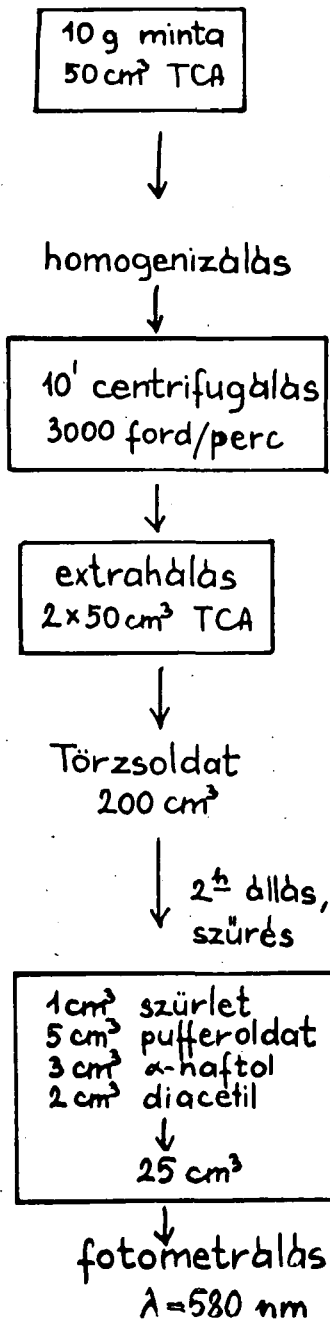
#### 2.4 Kreatintartalom mérése a hús-szója keverékek esetében

A vizsgálat menetét a 3. ábra szemlélteti.

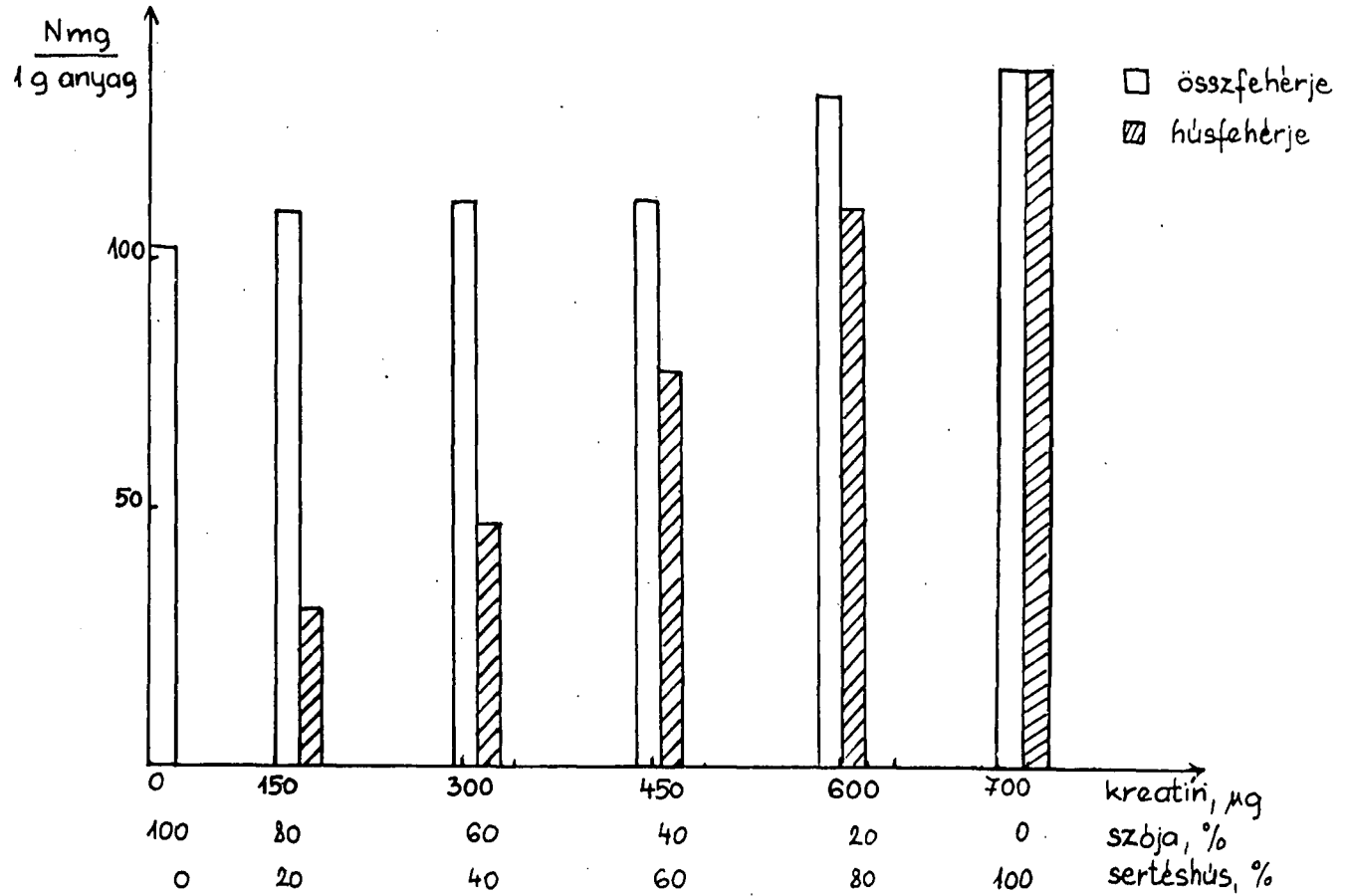
A hús-szója keverékek vizsgálati adatait a 4., 5., 6. és a 7. ábrák szemléltetik. A minták nitrogéntartalmát Kjeldahl szerint mértük (10).

Mind a hőkezelt, mind a hőkezeletlen minták grafikonjait vizsgálva lineáris összefüggést találtunk az értékes izomfehérje nitrogéntartalma és a kreatinnal arányos extinkció között mind sertéshús-szója, mind marhahús-szója keverékek esetében (8. és 9. ábrák).

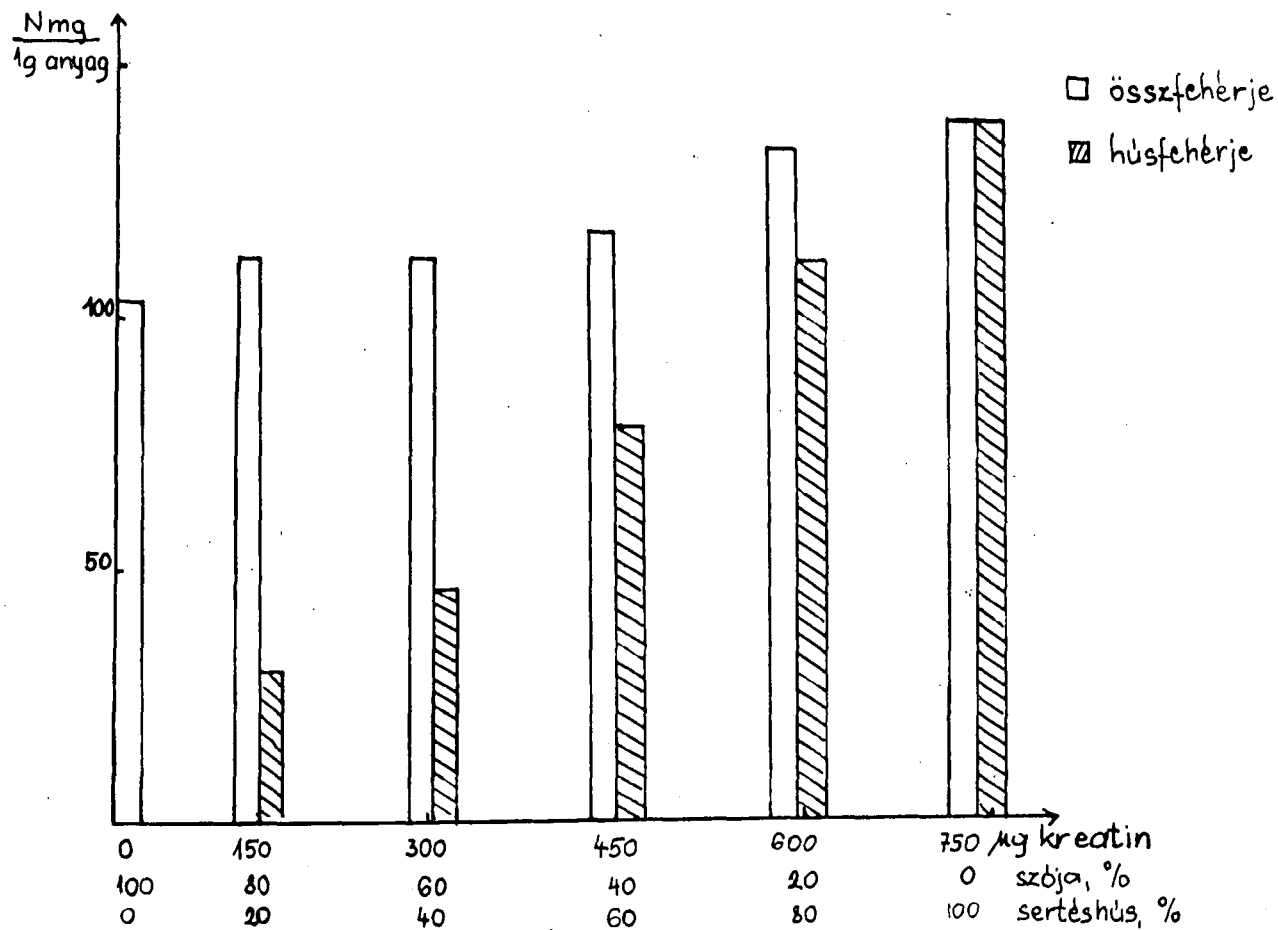
## A kreatintartalom mérése



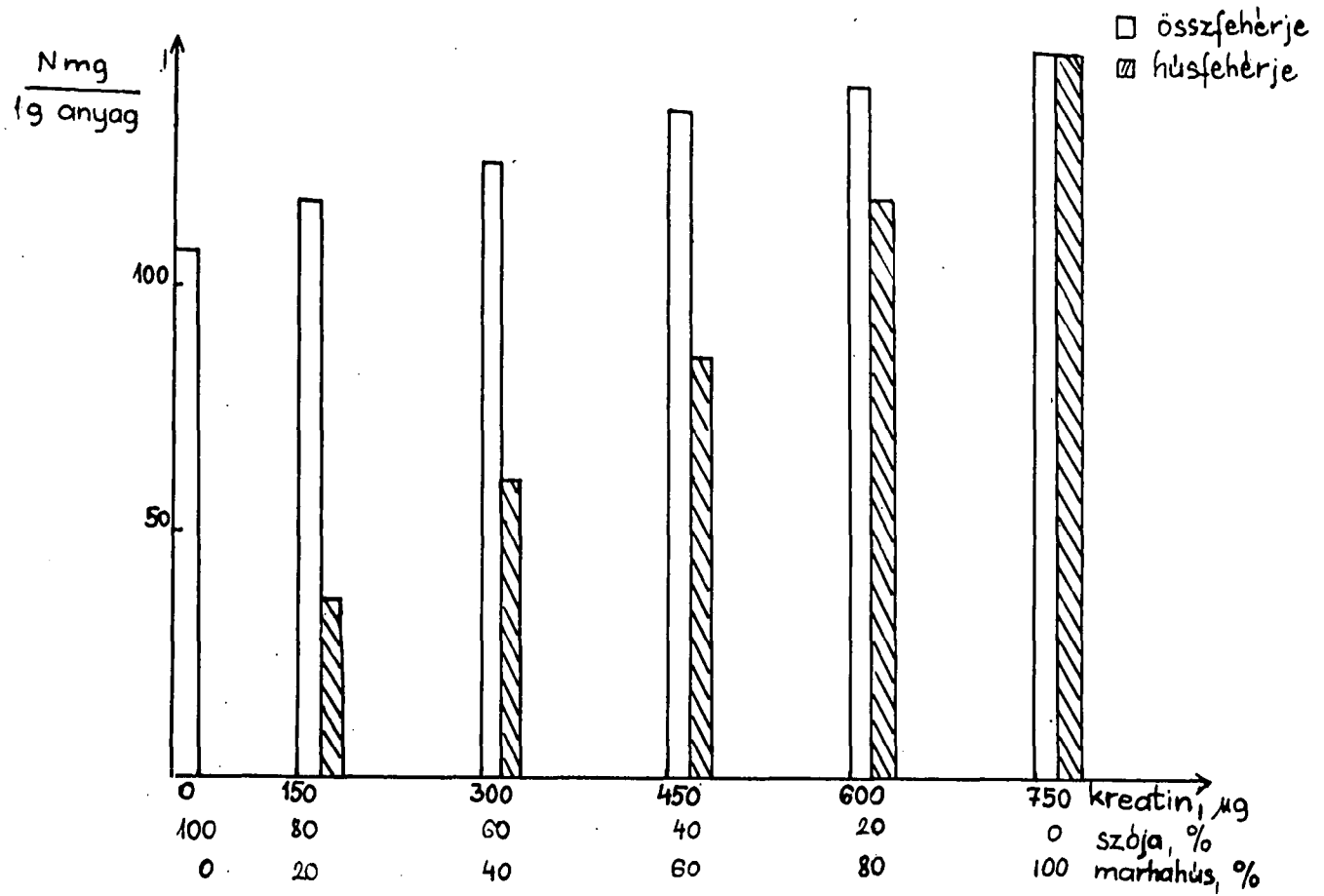
3. ábra. A kreatintartalom mérése



4. ábra. Hőkezelés nélküli sertéshús-szója keverékek adatai

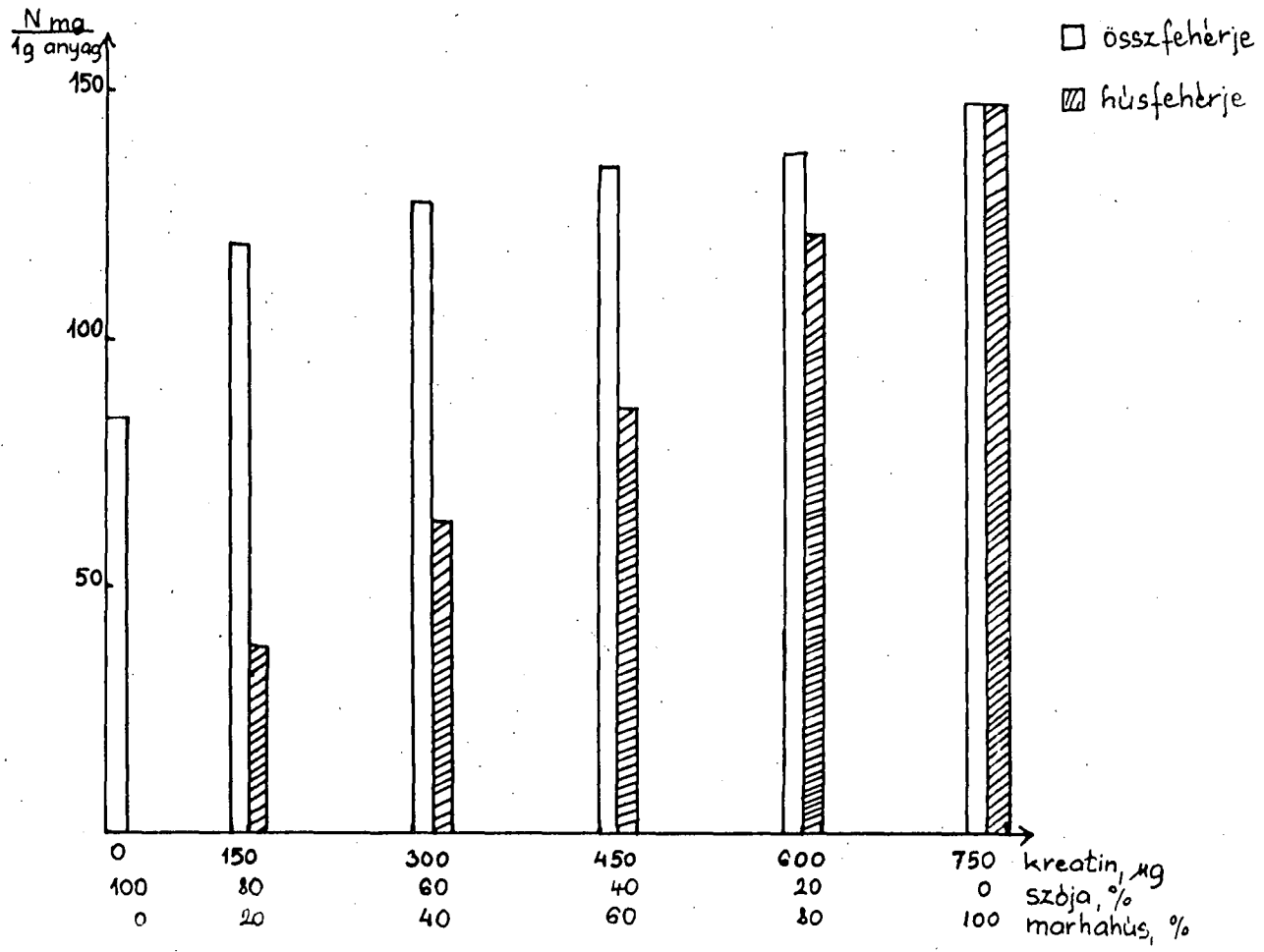


5. ábra. Hőkezelt sertés-hús-szója keverékek mérési adatai

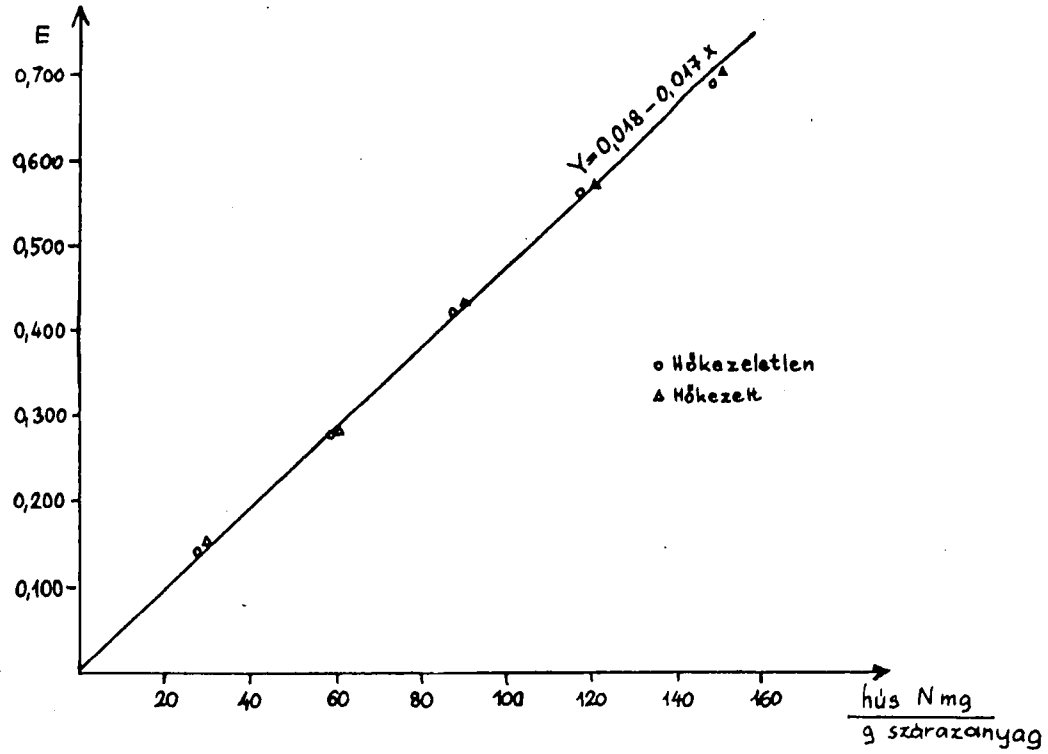


6. ábra. Hőkezelés nélküli marhahús-szója keverékek mérési adatai

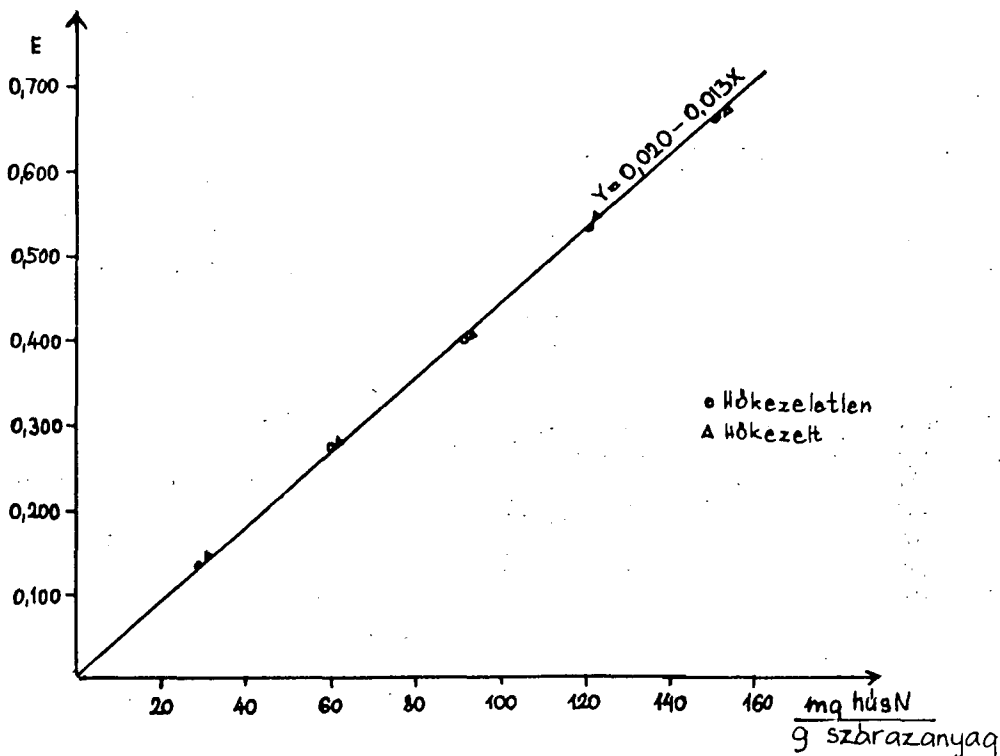




7. ábra. Hőkezelt marhahús-szója keverékek mérési adatai



8. ábra. Hús N(mg)-kreatintartalom (E) közötti összefüggés marhahús-szója mintáknál



9. ábra. Hús N(mg)-kreatintartalom (E) közötti összefüggés sertéshús-szója mintáknál

### 3. ÉRTÉKELÉS

Kísérleteink során — az általunk vizsgált valamennyi modellnél — a húsfehérje és a kreatintartalommal arányos extinkció között lineáris összefüggést találtunk.

Az egyenesek iránytangensei közötti eltérés minimálisnak adódott, matematikailag szignifikanciát nem mutatnak, így egy közös egyenletet határoztunk meg  $X$  és  $Y$  kapcsolatára.

A módszer alkalmazhatóságának és reprodukálhatóságának ellenőrzésére 5 különböző, általunk készített húskeverék kreatintartalmát határoztuk meg, összesen 30 vizsgálattal. A minták Kjeldahl szerinti fehérjetartalma és a kreatintartalom alapján mért értékek között szignifikáns különbséget nem tapasztaltunk.

A kreatintartalom mérése esetén az eredmények reprodukálhatósága  $\pm 5\%$ . A számításokat a teljes nitrogén helyett a minta tömegére is vonatkoztattuk. Ez esetben szintén szignifikáns korrelációt kaptunk.

Ennek a számításnak az az előnye, hogy nem kell meghatározni a teljes nitrogéntartalmat Kjeldahl szerint. Tekintettel arra, hogy a húsipari termékeknél segédanyagként használnak nátrium-kazeinátot, méréseket végeztünk annak eldöntésére, adja-e az alfa-naftol-diacetil reakciót. Bizonyosodott, hogy színreakciót ez a reagensekkel

## 2. TÁBLÁZAT

*Fehérjemeghatározási módszerek összehasonlítása különböző arányú marhahús-sertéshús mintáknál*

| Mintaösszetétel |     | N mg/g szárazanyag |                     |
|-----------------|-----|--------------------|---------------------|
| M %             | S % | Kjeldahl           | fotometriás         |
| 100             | 0   | 127,4              | 125,3 (124,2-128,4) |
| 80              | 20  | 130,7              | 131,2 (129,2-132,9) |
| 60              | 40  | 134,3              | 136,5 (134,1-138,0) |
| 40              | 60  | 137,8              | 136,9 (134,8-140,2) |
| 20              | 80  | 141,4              | 142,5 (139,1-144,2) |
| 0               | 100 | 145,1              | 147,1 (146,1-149,8) |

nem ad, tehát esetleges jelenlétében a Kjeldahl szerinti össznitrogén magasabb, mint a kreatintartalom alapján számított húsfehérje-mennyiség.

Megvizsgáltuk továbbá, hogy az inszövet, zselatin, bőrke, milyen mértékben lehet zavaró hatású. Ez esetben sem kaptunk mérhető színintenzitást.

Ez annyit jelent, hogy a módszerrel nemcsak növényi fehérje, hanem kötőszövet, húsipari segédanyagok mellett is mennyiségileg mérni tudjuk az összfehérjén belül az értékes izomfehérjét.

## IRODALOM

1. Dahl, O.: Creatine content as an index, of the meat product. J. Agric. Food Chem. 11. 350-355. 1963.
2. Eggleton, P. Elsdon, S. R., Gough, N.: The estimation of creatine and diacetyl. Biochem J. 37., 526-529. 1943.
3. Khan, A. W., Couen, D. C.: Rapid estimation of muscle proteins in beef-vegetable protein mixtures. J. Agric. Food Chem., 25., 236-238. 1977.
4. Kiermeier, F.: Handbuch der Lebensmittelchemie III/2 989-997 Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, 1968.
5. Lőrincz, F. Lencsepeti, J.: Húsipari Kézikönyv, Mezőgazdasági Kiadó, Budapest, 1973.
6. Sváb, J.: Biometriai módszerek a mezőgazdasági kutatásban, Mezőgazdasági Kiadó, Budapest, 60-72. 1973.
7. Válas, Á., Gellei, J.: Detection of soya and milk proteins in the of meat proteins. Acta Alimentaria, 3., 215-227. 1977.
8. Válas, Gy-né—Dworschak, E.: Konzerv- és Paprikaipar, 5., 188. 1978.
9. Wong, T.: Studies on creatine determination by  $\alpha$ -naphthol-diacetyl reaction. Anal. Biochem., 40., 18-28. 1971.
10. MSZ 5874/2-72, 5874/4-74, 5874/8-78 Húskészítmények vizsgálati módszerei

## QUANTITATIVE DETERMINATION OF MUSCLE PROTEIN IN PROTEIN-CONTAINING PRODUCTS OF VARIOUS ORIGINS

*Dr. Erzsébet Gábor, Dr. Éva Vámos*

The quantitative determination of muscle protein is based on the fact that, in a suitable medium, the reagent  $\alpha$ -naphthol-diacetyl reacts with creatine to give a red colour, which can be measured photometrically. The intensity of the colour is proportional to the concentration of creatine. Creatine is a compound that occurs characteristically in muscle. Plant proteins and other animal proteins do not contain creatine. The quantity of creatine therefore gives information on the muscle protein content. It is necessary to prepare a calibration line for the measurements. The investigations were

extended to the study of heat-treated and non-heat-treated substances with pork — soya and beef — soya compositions. The mathematical evaluation reveals that the method is well applicable for measurement of the muscle content in such systems.

## QUANTITATIVE BESTIMMUNG DES MUSKELEIWEISSES IN ERZEUGNISSEN MIT EIWEISSEN UNTERSCHIEDLICHER HERKUNFT

*Dr. Erzsébet Gábor—Dr. Éva Vámos*

Die quantitative Bestimmung des Muskeleiweisses beruht auf der Reaktion, dass in entsprechendem Medium  $\alpha$ -Naphthol-diazetyl mit dem Kreatinin eine Rotfärbung hervorruft, die photometrisch messbar ist. Die Farbintensität ist proportional der Kreatininkonzentration. Das Kreatin ist eine typisch im Muskel vorkommende Verbindung. Pflanzliche Eiweisse and andere tierische Eiweisse enthalten kein Kreatin. So gibt die Kreatinmenge Aufschluss über den Muskeleiweissgehalt. Zu den Messungen ist die Anfertigung einer Kalibrationsgeraden erforderlich. Die Untersuchungen wurden auch zur Prüfung von hitzebehandelten und nichthitzebehandelten Schweinefleisch-Sojabohnen- bzw. Rindfleisch-Sojabohnen-Zusammensetzungen herangezogen. Die mathematische Auswertung lässt feststellen, dass die Methode sich vorzüglich zur Messung des Muskeltes in derartigen Systemen eignet.

## КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ МЫШЕЧНОГО БЕЛКА В ПРОДУКТАХ, СОДЕРЖАЩИХ БЕЛОК РАЗЛИЧНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ

*Д-р Габор Миклошне—д-р Вамош Каройне*

Количественное определение мышечного белка основано на той реакции, что в соответствующей среде реагент  $\alpha$ -нафтолдиазетил при взаимодействии с креатином даёт красное окрашивание, которое можно фотометрически измерять. Интенсивность красного окрашивания пропорциональна концентрации креатина. Креатин является типичным находящимся в мышцах соединением. Растительный белок, а также другие животные белки не содержат креатина. Поэтому количество креатина даёт информацию относительно содержания мышечного белка. Для измерений необходимо составление калибрационной прямой. Авторы распространили исследования на термически обработанные и термически необработанные материалы, содержащие свинину-сою, а также говядину-сою. На основе математических подсчётов установлено, что метод успешно применим в таких системах для измерения содержания мышечного белка.