

KÜLÖNBÖZŐ ELJÁRÁSOK ÖSSZEHASONLÍTÓ VIZSGALATA IZOMFEHÉRJETARTALOM MEGHATÁROZÁSÁRA

Vámos Károlyné dr.^M

Az egészséges táplálkozás iránti igények növekedésével a napi energiabevitelben egyre nagyobb szerepet kap a fehérje mennyisége. A napi N-Ürítést fedező fehérje 40 g, ez a fiziológiai fehérje minimum az emberi szervezet számára. A tökéletesen jó közérzetet és munkaképességet ennyivel nem lehet biztosítani. Optimális hatást a napi 80-100 g fehérjebevitellel érhetünk el.

Az egyes táplálékfehérjék biológiai értékének alapja az esszenciális aminosav tartalom. Az emberi táplálkozás szempontjából az állati eredetű táplálékok tartalmazzák az elsőrendű fehérjét. Nagyon fontos, hogy a fehérjeszükségletnek kb. felét állati eredetű fehérjével biztosítsuk.

Táplálkozásélettani szempontból az állati fehérjék is különböző értékűek. Az izomfehérje biológiailag teljes értékű, mivel valamennyi az emberi szervezet számára nélkülözhetetlen esszenciális aminosavat tartalmazza. Az inakban, kötőszöveti hárttyákban, bőrkében levő fehérjék esszenciális aminosavakat vagy egyáltalán nem, vagy csak igen kis mennyiségben tartalmaznak, tehát táplálkozásbiológiailag lényegesen kisebb értékűek, mint az izomfehérje.

Fenti okokból az egyes húskok és húsipari készítmények fehérjetartalmának mérésével nem jellemezhető kielégítően a termék táplálkozásbiológiai értéke, ehhez fontos ismerni az összfehérjetartalom belül az izom- és kötőszöveti fehérje összetevőket.

Vizsgálataink során célul tűztük ki a különböző fajtájú és összetételű húskok egyes fehérjekomponenseinek vizsgálatát, az eredmények matematikai összehasonlítását.

^MKEE Élelmiszeripari Főiskolai Kar, Technológiai Intézet, Kémiai Tanszék

Hús és húskészítmények fehérjekomponenseinek meghatározási módszerei

A húsiparban az összfehérjetartalom meghatározására a Kjeldahl módszert használják. A különböző biológiai értékű fehérjeösszetevők mérésére többféle módszer ismeretes.

Kísérleteink során az izomfehérje meghatározását a kreatintartalom mérésére vezettük vissza, valamint Biuret reakcióval mértük a káliumjodid-káliumdihidrogén-foszfát pufferben oldható fehérjefrakciók mennyiségét.

A kötőszövet tartalmát az izomfehérje számításához az MSZ 5874/9-84 szerint határoztuk meg.

Izomszövet tartalom meghatározása

1. Kreatintartalom mérésére visszavezetett közvetett eljárás

A módszer elve

A kreatin jellegzetesen az izomszövetben található (WONG, 1971). Mennyisége gyakorlatilag állandó és arányos a táplálkozásbiológiailag hasznos fehérjével.

A módszer lényege, hogy lúgos közegben a kreatin α -naptól, diacetil reagensekkel vörös elszíneződést ad, melynek intenzitása a kreatintartalommal arányos.

Szükséges vegyszerek

- Triklórecetsav (TCA; 10 v %-os oldat),

- Nátriumkarbonát-nátriumhidroxid pufferoldat, 160 g Na_2CO_3 és 60 g NaOH /1000 cm^3 ,
- α -naftol; 1 % (frissen készítve),
- Diacetil: 0,1 cm^3 /100 cm^3 desztillált víz,
- Standard oldat; 50 mg kreatin/100 cm^3 TCA oldatban oldva.

A mérendő minta előkészítése a vizsgálatokhoz

Megfelelő méretű centrifugacsőben 5,00 g előzetesen homogenizált vizsgálati anyagot 30 cm^3 10 %-os TCA oldattal 15 percig mágneses keverőn keverjük, majd 3500 ford/perc fordulatszámmal 15 percig centrifugáljuk. A felülúszót 100 cm^3 mérőlombikba áttöltjük, a maradékot még két alkalommal 30-30 cm^3 TCA oldattal extraháljuk. (10 perc kevertetés, 15 perc centrifugálás). Az egyesített felülúszókat TCA oldattal jelig töltjük. 2 órai állás után szűrjük és 1 cm^3 -t használunk fel a kreatintartalom méréséhez.

Kreatintartalom mérése

A koncentráció méréshez 25 cm^3 -es mérőlombikba 1,00 cm^3 extraktumot, 5,00 cm^3 Na_2CO_3 - NaOH pufferoldattal 2,00 cm^3 diacetil és 3 cm^3 α -naftol reagensekkel mérünk össze. Minden oldat hozzáadása után az elegyet alaposan összerázzuk, majd desztillált vízzel jelig töltjük. A kialakult vörös színeződés a kreatintartalommal arányos. Az oldat abszorbanciáját 520 nm hullámhosszon, 25 perc eltelte után határozzuk meg. Összehasonlító oldat: kreatin extraktum helyett 1,00 cm^3 TCA oldatot tartalmaz.

Kalibrációs mérések

50 mg %-os kreatin törzsoldatból TCA-val hígítási sort készítettünk regressziós egyenes szerkesztéséhez. A sor egyes tagjai 50, 100, 150, 200, 250 μg kreatin/ cm^3 kreatint tartalmaznak. A hullámhosszfüggvény maximumán (520 nm) mért adatokból szerkesztett egyenes egyenlete:

$$Y = 2,66x - 0,03.$$

x = mg kreatin/1 cm^3 oldat.

A kreatintartalom számítása

A vizsgálatokhoz a következő beméréseket használjuk:

Vizsgálati minta : 5,00 g
Törzsoldat térfogata : 100,00 cm^3
Felhasznált oldat térf. : 1,00 cm^3

$$\text{Kreatin mg/100 g anyag} = 100 \cdot 20 \cdot x = 2000x$$

x = a regressziós egyenes alapján számított kreatin koncentráció.

2. Káliumjodid-káliumdihidrogén-foszfát pufferben oldható fehérjefrakció mérése

A mérés elve

Az adott pufferben oldható fehérjetartalom szignifikáns összefüggésben áll a keverék izomfehérje tartalmával. Bizonyítást

nyert, hogy a káliumjodid az oldható izomfehérjék jobb extrahálását teszi lehetővé, ugyanakkor a kötőszöveti és növényi fehérjék legkevésbé ebben a pufferben oldódnak (Dikeman, 1971).

Ezenkívül azt is megállapították, hogy az izomfehérje extrahálhatósága ebben a pufferben független a hús puhaságától és érettségétől.

Szükséges anyagok

- 1,1 M káliumjodid oldat,
- 0,1 M káliumjodid-dihidrogén-foszfát,
- tengeri homok,
- Biuret reagens: A/B : C = 1 : 1 (frissen keverve)
A: 8,7 g $\text{CuSO}_4 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$ 100 cm^3 vízben
B: 26 g tri-nátrium-citrát x 2 H_2O és 50 g nátrium-karbonát
800 cm^3 vízben,
A és B oldatot összeöntjük és 1000-re töltjük deszt.vízzel,
C: 4 M NaOH;

Szükséges eszközök

- A laboratórium általános felszerelésén kívül:
- centrifuga 3500 ford/perc (JANETZKY S60),
 - spektrofotométer; látható tartományban működő.

Mérés menete

0,50 g mintát mérünk be centrifugacsőbe, lapított végű üvegbot segítségével kevés homokot szórva rá eldörzsöljük. 30,00 cm^3 pufferoldattal állandó keverés mellett az oldható fehérjéket

kioldjuk, majd centrifugáljuk 20 percig (5000 ford/perc, Janetzky S60).

A felülúszót leöntjük, az oldat fehérjetartalmát biuret reakcióval határozzuk meg.

1,00 cm³ extraktum.
2,00 cm³ 1 N NaOH
1,00 cm³ 1-propilalkohol
2,00 cm³ biuret reagens; 20 perc után mérjük az oldat abszorbanciáját 550 nm hullámhosszon.

A frakció fehérjetartalmának számításához

$$Y = 0,119x - 0,0188$$

egyenes egyenletet használunk, amelyet korábbi mérésekhez albuminra vettünk fel.

Az izomfehérjetartalom számítása

Bemérés : 0,50 g,
Oldat térfogata : 30,00 cm³,
Felhasznált térf. : 1,00 cm³.

$$\text{Feh \%} = \frac{30 \cdot 200 \cdot x}{1000} = 6 \cdot x$$

x = regressziós egyenes alapján számított feh. mg.

A módszerek kidolgozása után modellkészítményeket állítottunk össze sertéscomból, marhacombból és sertés ínből. Az alapanyagokat mikrokutteren aprítottuk, majd a megfelelő arányban összeállított anyagokat BIOMIX homogenizátorral egyneműsítettük. Így módon két modell sorozathoz jutottunk sertéscomb-in, marhacomb-in összetételű sorozatokhoz.

I. táblázat

Izomfehérje meghatározására alkalmazott
módszerek összehasonlítása

Összetétel %	Számított izomfeh.		Mért izomfehérje				$\frac{A}{B}$
	%	rel.%	Puff.odh.feh. B	Kreat.tart.al. A			
Sertés comb:100 in : 0	20,90	100	20,04	100	368	100	18,36
Sertés comb:80 in : 20	18,52	88,6	16,70	83,3	310	81,4	18,56
Sertés comb:60 in : 40	15,52	72,5	13,90	69,3	259	70,5	18,63
Sertés comb:40 in : 60	11,77	56,3	11,02	46,0	204	55,5	18,51
Sertés comb:20 in : 80	8,40	40,1	7,70	38,4	149	40,6	18,35
Sertés comb: 0 in : 100	5,03	24,0	5,20	25,9	93	25,6	17,88
Marha comb: 100 in : 0	21,91	100	20,57	100	380	100	18,47
Marha comb:80 in : 20	19,73	90,0	18,81	91,4	350	92,2	18,61
Marha comb:60 in : 40	16,56	75,5	15,18	73,7	285	76,5	18,77
Marha comb:40 in : 60	13,39	61,1	13,00	63,1	240	63,5	18,46
Marha comb:20 in : 80	10,22	46,6	9,81	46,7	180	47,5	18,34
Marha comb: 0 in : 100	50,3	22,9	5,20	25,2	93	29,5	17,88

Átlag: 18,40

II. táblázat

Izomfehérjetartalom összehasonlítása
sertéscomb-ín, marhacomb-ín mintáknál

Minta- szám	Pufferold.f. g/100 g	Kreatinból szá- mított izomfeh.* g/100 g	Eltérés
Sertéscomb-ín			
1.	20,04	19,07	- 0,17
2.	16,70	16,74	+ 0,04
3.	12,90	13,08	+ 1,00
4.	11,02	11,01	- 0,01
5.	7,70	8,04	+ 0,34
6.	5,20	5,02	- 0,18
Marhacomb-ín			
1.	20,57	20,52	- 0,05
2.	18,81	18,90	+ 0,09
3.	15,18	15,39	- 0,21
4.	13,00	12,96	+ 0,04
5.	9,81	9,72	+ 0,09
6.	5,20	5,02	+ 0,18

*szorzófaktor : 0,054

Értékelés

Vizsgálatainkkal célul tűztük ki annak megállapítását, hogy az általunk használt izomfehérje mérésére alkalmas eljárásokkal követhető-e az izomfehérje fokozatos csökkentése az összfehérjetartalomban. A módszerek a minták kreatin és pufferoldható fehérjetartalmának mérésén alapultak.

Meghatároztuk a modell készítmények hidroxiprolin tartalmát, ebből származtattuk a kötőszöveti hányadot, ezeket az értékeket levonva az összfehérjetartalomból kiszámítottuk a sertéscomb és marhacomb izomfehérjetartalmát. A többi modell készítmény "számított" izomfehérje adatait ebből az értékekből, valamint a keverési arány figyelembevételével számítottuk.

A foszfokreatin kreatinként meghatározott bomlástermékei a sertés és marhahúsban viszonylag állandó mennyiségben voltak jelen, míg a kevert mintákban összefüggésben álltak a keverék izomfehérje tartalmával. A kreatintartalom színhúsaokra kapott értékeit 100 %-nak véve kiszámoltuk a modell készítmények viszonyított csökkenését, megadva, hogy az adott kreatintartalomnak hány % izomfehérje felel meg az összfehérjéből. Ezek az értékek jó egyezést mutatnak a "számított" izomfehérje szám-
adatokkal.

A pufferben oldható fehérjetartalom meglehetősen magas volt a sertéscomb és marhacomb mintáknál, közel megegyezett a Kjeldahl szerinti fehérje értékeivel, az egyéb mintákban mennyisége arányosan változott a bevitt izomfehérje csökkentésével. A százalékban kifejezett adatok hasonlóan alakultak, mint a másik két adatsornál (1. táblázat).

Összegezve megállapítottuk, hogy a vizsgált paraméterek szignifikáns összefüggésben állnak a keverékek izomfehérje tartalmával, és rutin analitikai célokra alkalmasnak tűnnek. Az eredmények akár külön-külön, akár kombináltan jó jellemzői a minták táplálkozásbiológiai értékének. Ezeknek az összetevőknek a mérése meglehetősen egyszerű, kielégítően pontos, viszonylag gyorsan nagy számú minta is vizsgálható segítségükkel.

Az oldhatóságon alapuló módszert a kreatinmódszerrel együtt alkalmazva ellenőrizhetjük az izomfehérje mért értékét, ill. kizárhatja azt a lehetőséget, hogy külső kreatin adagolással hamisítás történjen. A kreatin mg/100 g (A) és az extrahálható fehérje g/100 g (B) számszerű adatainak hányadosa a különböző sertés- és marhahúsok esetén eléggé állandó érték 17-19 között változik. A 19-nél nagyobb érték külső kreatin bekeveréssel történő hamisításra utal, a 17-nél kisebb adat pedig arra, hogy a húsminták helytelen kezelése folytán nagymértékű osepégsi veszteség következett be.

A két adatsor hányadosának viszonylag konstans értéke lehetővé teszi az izomfehérje kreatinkoncentráció (mg/100 g) alapján történő becslését. Ha átlagoljuk a kreatinkoncentráció/pufferoldható fehérje arányát kifejező adatokat, olyan szorzófaktorhoz jutunk, amellyel a mért kreatinkoncentrációból jó közelítéssel az izomfehérjét származtathatjuk.

Számításaink szerint ez a szorzófaktor friss sertés- és marhahús mintákra 0,054.

A szorzó segítségével kiszámoltuk az általunk vizsgált minták izomfehérjetartalmát, valamint összehasonlítottuk a mért értékekkel (2. táblázat). a kreatinkoncentráció alapján számított értékek eltérése a mért adatoktól sertéscomb - in, marhacomb - in, mintáknál általában $\pm 0,40$ %, csak egyetlen esetben kaptunk 1,00 % fölötti értéket.

IRODALOM

1. Kerese I.: Fehérje vizsgálati módszerek
Műszaki Könyvkiadó Budapest, 1975.
2. Schormüller I.: Handbuch der Lebensmittelchemie -Band III./2
Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg-New York, 1968.
3. Lőrincz F.-Lencsepeti I.: Húsipari Kézikönyv,
Mezőgazdasági Könyvkiadó, 1973.
4. Brieskorn, C.H. Scheide, I.: Zeitschrift für Lebensmittel-
untersuchung und Forschung 321, 195. 1964.
5. Fikielna, N.B.-Bohdan, I.: Gosp. Miesna, 26, 15. 1974.
6. Mendel, F.-Wangala, J.F.: J.Agr.Food Chem.
19, 627. 1971.
7. Wong, T.: Studies on creatine determination by α -naphtol-
diacetyl reaction.
Analyt. Biochem., 40, 18-28. 1971.
8. Ojtóczy K.-né: Húskészítmények kötőszöveti fehérjetartal-
mának vizsgálata
ÉVIKE. XVI. 43. 1970.
9. MSZ: 5874/9-84.

COMPARISON OF VARIOUS PROCEDURES FOR MUSCLE PROTEIN DETERMINATION

E. Vámos

The nutritional biological value of meats and meat-industry products cannot be characterized satisfactorily by measurement of their total protein contents; within this, it is necessary to know the muscle and connective tissue protein components. A study has been made of certain protein components of meats of various types and compositions. Muscle protein determination was based on measurement of creatine content. Protein fractions soluble in KI-KH₂PO₄ buffer were quantitated with the biuret reaction. For muscle protein calculation, connective tissue content was determined according to MSZ 5874/9-84. Creatine contents in pork and beef were relatively constant; in mixtures they depended significantly on the muscle protein content of the mixture. Measurements of buffer-soluble protein content of the mixture. Measurements of buffer-soluble protein content gave similar data. Either separately or in combination, the measured parameters well characterize the nutritional biological value of a sample. Muscle protein content can be given (max. difference 1 %) via the ratio of creatine concentration (mg/100 g) and buffer-soluble protein.

VERGLEICHENDE UNTERSUCHUNG VERSCHIEDENER VERFAHREN ZUR BESTIMMUNG DES MUSKELEIWEISSGEHALTES

Frau Dr. K. Vámos

Mit der Messung des Gesamteiweißgehaltes von Fleisch und Fleischindustrieprodukten ist der ernährungsbiologische Wert derselben nicht hinreichend charakterisierbar, dazu

bedarf es auch der Kenntnis der Muskel- und der Bindegewebeeiweisskomponenten. Ziel der vorliegenden Untersuchungen war die Ermittlung der einzelnen Eiweisskomponenten in den verschiedenen Fleischsorten und - Zusammensetzungen.;

Im Laufe der Versuche wurde die Bestimmung des Muskeleiweisses auf die Messung des Kreatingehaltes zurückgeführt und mit der Biuret-Reaktion die Menge der in Kaliumjodid-Kalium-dihydrogen-Phosphatpuffer löslichen Eiweissfraktionen gemessen. Die Bestimmung des Bindegewebegehaltes zur Berechnung des Muskeleiweisses geschah nach der Methode MSZ 5874/9-84.

Das Kreatin war in Schweine- und Rindfleisch in relativ konstanter Menge zugegen, während in den gemischten Proben ein signifikanter Zusammenhang mit dem Muskeleiweissgehalt des Gemisches feststellbar war. Ähnliche Daten lieferte auch die Messung des pufferlöslichen Eiweissgehaltes. Die gemessenen Parameter sind sowohl separat, als auch kombiniert, gute Kennzeichen des ernährungsbiologischen Wertes der Proben.

Mit der Bestimmung der Kreatinkonzentration (mg/100 g) bzw. des Verhältnisses des pufferlöslichen Eiweisses sind wir in den Besitz eines Multiplikationsfaktors gelangt, mit dessen Hilfe (bei Abweichungen von maximal 1 %) der Muskeleiweissgehalt der Probe angegeben werden kann.

СОПОСТАВИТЕЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ РАЗЛИЧНЫХ МЕТОДОВ ПО ОПРЕДЕЛЕНИЮ СОДЕРЖАНИЯ БЕЛКА В МЫШЦЕ

Вамош Каройна

Измерением лишь общего содержания белка мяса и мясных продуктов нельзя характеризовать его питательно-биологическую ценность; для этого важно внутри этих измерений знание составляющих белка в мышечной и соединительной ткани. В ходе наших

исследований в качестве намеченной цели мы взяли анализ некоторых компонентов белка в мясе различного сорта и различного состава.

В процессе экспериментов определение белка в мышце мы свели к измерению состава креатина. Далее с помощью реакции Бюрмы измеряли количество фракций белка, растворимого в буфере калий-йоида — калий водорода-фосфата. Содержание мышечной ткани к расчётам белка в мышце мы определили по стандарту ВНР МС 5874/9-84.

Креатин в основном в постоянном количестве присутствовал в свинине и говядине. Но в смешанных образцах он находился в достоверной зависимости от содержания белка в мышце, в данной смеси. Аналогичные данные мы получили в ходе измерения содержания белка, растворимого в буфере. Измеренные показатели и по отдельности, и в комбинации являются хорошими показателями питательно-биологической ценности данного препарата.

Определением пропорции концентрации креатина (мг/100г) и белка, растворимого в буфере, мы вскрыли такой множительный фактор, с помощью которого (макс. с 1 % отклонений) можно дать содержание белка в мышце, в исследуемом образце.