

Húsok és húskészítmények érési és romlási folyamatainak vizsgálata*

KAFFEHR BÉLA és K. SÁROSSY GABRIELLA
Vas Megyei Közegészségügyi Járványügyi Állomás, Szombathely

Érkezett: 1957. augusztus 12.

Élelmiszerhigiénés vizsgálataink során húsok, húskészítmények romlottságának megállapítása, illetve a húsfehérje bomlási folyamatainak értékelése gyakran súlyos nehézségekbe ütközött. A rendelkezésre álló klasszikus húsromlottsági vizsgálatok alapján végzett minősítés is igen gyakran kritika tárgyát képezhette, sőt esetenként nem minden alap nélkül támadási felületet is jelentett. A gyakorlat ugyanis lényegében csak az érzékszervi vizsgálatokra támaszkodik, amelyet a bakteriológiai vizsgálatok támasztanak alá. Ezek is azonban — nem beszélve a könnyen romló élelmiszernél túl hosszú két napos inkubációs időről — gyakran ellentmondásba kerülnek egymással. A klasszikus húsromlottsági vizsgálatok, az *Éber*-próba és metilénkék redukciós próba a kérdést nem vizszik lényegesen előbbre (1).

Objektívebb húsromlottsági vizsgálati módszerek kidolgozására számos próbálkozás történt. Legáltalánosabban használt ezek közül az isonitril-reakció. Előnye, de egyben hátránya is igen nagy érzékenysége. A romlási fokozatok értékelése, tekintve hogy a primer aminokból keletkező isonitril szagáról van szó, nagyon labilis. A metilénkék redukciós módszert érzékenyebb festékek alkalmazásával (TTC) lehet módosítani. A hús érése és bomlása során beálló pH változás észlelésén alapszik a *Walkiewicz*-próba. *Tirazuyan* a standard viszonyok között készített vizes kivonatnak a desztillált vízre vonatkoztatott szűrődési idejét használta fel a romlottság megállapítására (2). *Lyubin* és *Lebedeva* a hús által leadott és zárt rendszerben mért CO_2 mennyiségéből vont le következtetést a hús állapotára vonatkozóan (3). *Paikina* és *Podossinikova* szerint a Nessler-szám emelkedése jellemző a kezdődő romlásra (4).

Anélkül, hogy e helyen a módszerek részletes értékelésére, illetve a vonatkozó szakirodalom ismertetésére kitérnénk, általánosságban kell egy-két megjegyzést tennünk. A módszerek fő hiányossága, hogy a sokoldalú, számos tényezőtől függő problémát egy-egy csoportjellemzővel, a romlási folyamatok egy-egy jellegzetes vagy tipikus jelenségével közvetve kívánják jellemezni. A hús fehérje-, szénhidrát- és zsírtartalma, ezeknek egymáshoz való aránya, enzim- és pufferrendszere, eredeti és szekunder baktériumflórája,

*Előzetes közlemény (Szerk.).

a gyártás és tárolás körülményei mindmégannyi befolyásoló tényezője a romlási folyamatoknak. Ezt tekintetbe véve nem is várható, hogy a romlási folyamatok adott helyzetét egy-egy állandóval, jellegreakcióval rögzíteni lehessen. Számos, esetleg egymásnak ellentmondó jelenség alapos értékelése hozhat csak eredményt.

Kísérleteink céljából olyan módszerek kidolgozását tűztük ki, amelyek lehetőleg közvetlenül jellemezzék a húsfehérje bomlási folyamatait és lehetőleg objektív képet adjanak azok lefutásáról.

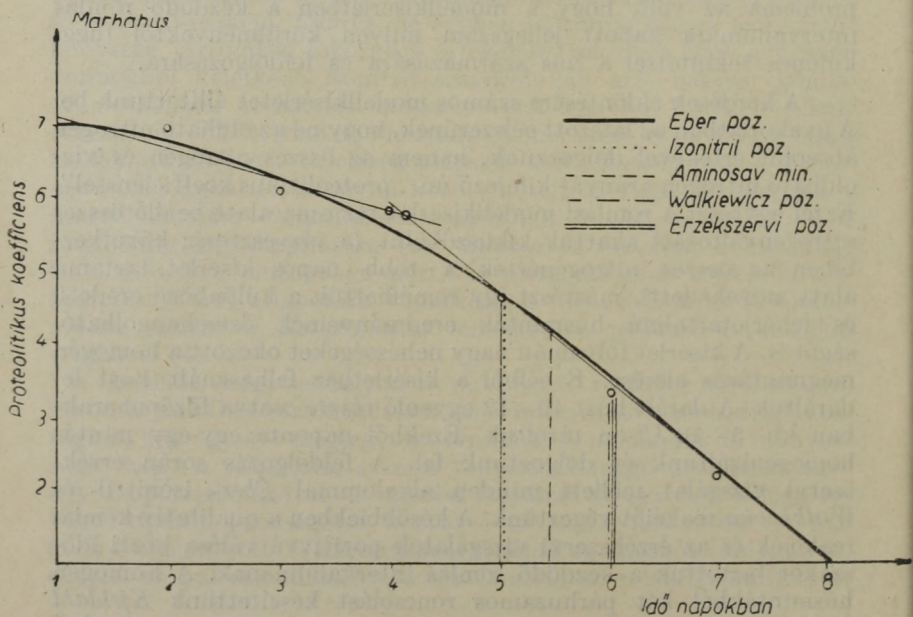
Ilyen módszernek találtuk a hús vízoldható nitrogén-tartalmának meghatározását. A módszer alapelvét a gyakorlat fehérjetartalmú élelmiszerek vizsgálatánál kiterjedten alkalmazza. Feltevélezésünk szerint az érés, majd később a romlás folyamán a hús nitrogéntartalmú anyagai között az egyensúly fokozatosan a kis molekula súlyú, poláris oldószerekben oldódó anyagok felé tolódik el.

A módszer alkalmazhatósága számos problémát vetett fel. Az első elvi kérdés az volt, hogy a fehérjék leépítésében az érés és romlás közti minőségváltozás kapcsolatba hozható-e az oldható nitrogén mennyiségének valamilyen relációjával? A másik alapvető probléma az volt, hogy a modellkísérletben a kezdődő romlás intervallumára kapott jellegszám milyen körülményektől függ, különös tekintettel a hús származására és feldolgozására.

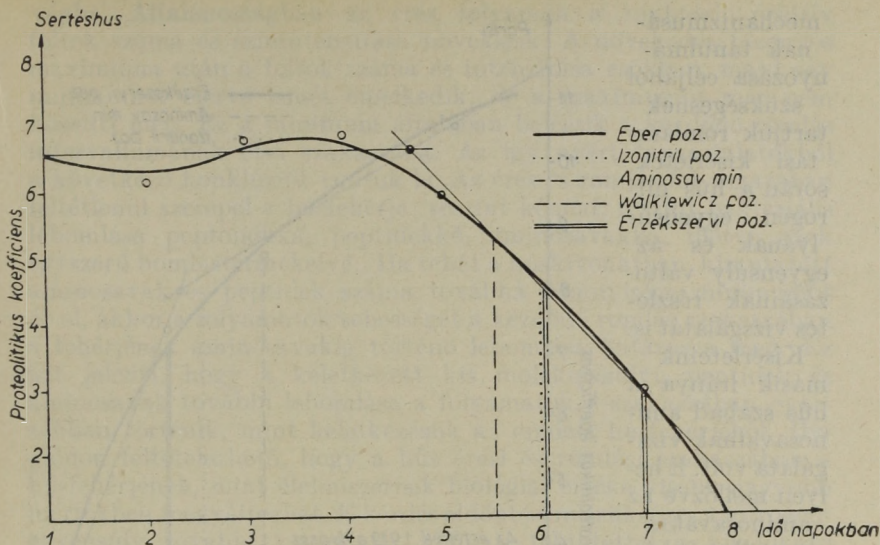
A kérdések eldöntésére számos modellkísérletet állítottunk be. A gyakorlatban az látszott célszerűnek, hogy ne az oldható nitrogén abszolút értékével dolgozzunk, hanem az összes nitrogén és vízoldható nitrogén arányát kifejező ún. „proteolitikus koefficienssel”. Ezzel egyrészt a romlási modellkísérlet tartama alatt beálló összes nitrogénváltozást akartuk kiküszöbölni (a vízvesztés következtében az összes nitrogénérték a több napos kísérlet tartama alatt növekedett), másrészt így remélhettük a különböző eredetű és fehérjetartalmú húsminták eredményeinek összehangolhatóságát is. A kísérlet folyamán nagy nehézségeket okozott a homogén megmintázás elérése. E célból a kísérlethez felhasznált húst ledaráltuk. A darált húst 10–12 egyenlő részre osztva főzőpoharakban kb. 5–10 °C-on tároltuk. Ezekből naponta egy-egy mintát homogenizáltunk és dolgoztunk fel. A feldolgozás során érzékszervi vizsgálat mellett minden alkalommal *Éber*-, isonitril- és *Walkiewicz*-reakciót végeztünk. A későbbiekben a kvalitatív kémiai reakciók és az érzékszervi vizsgálatok pozitívvá válása közti időszakot tartottuk a kezdődő romlás intervallumának. A homogén húsmintákból két párhuzamos roncsolást készítettünk *Kjeldahl* szerint. A roncsolmányokat felhígítva, azok aliquot részéből

Parnass-Wagner készülékben két-két desztillálást végeztünk. n/100 mérőadatokat alkalmazva a párhuzamos vizsgálatok jó egyezést mutattak. Nagy gondot okozott a vizes kivonat készítésénél a konstans körülmények biztosítása. Ezt a rázógépen való rázás idejének pontos betartásával és azonos minőségű szűrőpapíron való spontán átszűrődés alkalmazásával próbáltuk elérni. A szűrlet mennyiségét minden esetben a hozzáadott víz mennyiségére vonatkoztattuk. A vizes kivonat turbiditásának változása és szűrődési sebessége általában igazolta a *Tirazuyan* által kidolgozott módszerrel kapott eredményeket. Véleményünk szerint azonban ilyen vizsgálatok céljából a húsminta zsírtalanítása elengedhetetlenül szükséges. A zsírszövetek mennyisége és eloszlása, különösen sertéshúsnál, erősen befolyásolja a proteolízis lefutását is.

Modellkísérleteinket sovány marha- és sertéshússal, továbbá párisi készítményekkel végeztük. A kapott összefüggéseket az 1., 2. és 3. ábrákban közöljük. A proteolitikus koefficiensnek az időtől, — tehát a bomlási folyamatok lefutásától — való függését ábrázoló diagramokban mindhárom esetben voltak közös jellemzők.



1. ábra. Marhahús proteolitikus diagramja

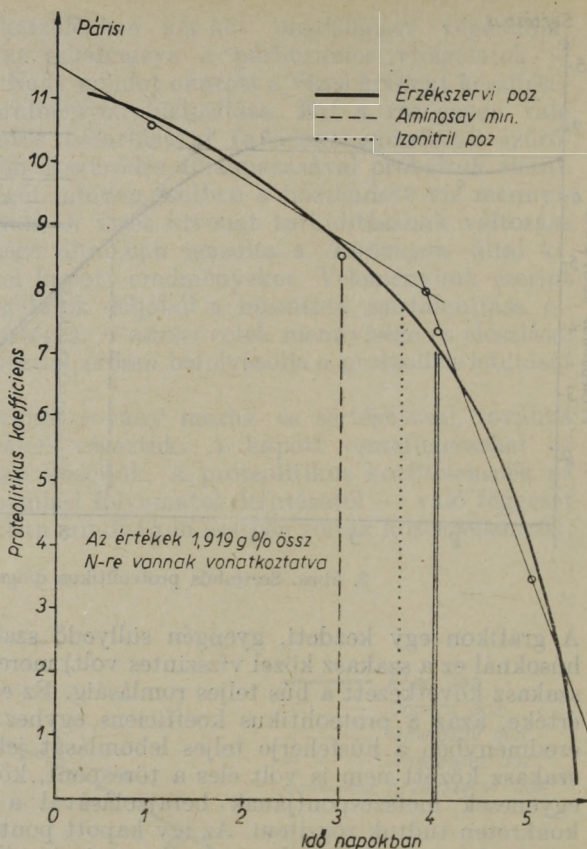


A grafikon egy kezdeti, gyengén süllyedő szakasz után (sertéshúsoknál ez a szakasz közel vízszintes volt) meredekebben süllyedő szakasz következett a hús teljes romlásáig. Ez esetben a függvény értéke, azaz a proteolitikus koeficiens, egyhez tartott, ami végeredményben a húsfehérje teljes lebomlását jelentette. Ha a két szakasz között nem is volt éles a töréspont, középértéküket jelző egyenesek metszéspontjának berajzolásával a változást mindig konkrétan tudtuk rögzíteni. Az így kapott pont mindig megelőzte mind a kémiai, mind pedig az érzékszervi vizsgálatok pozitivitását. Az e pontra eső proteolitikus koeficiens értéke eddigi vizsgálataink alapján nyers húsoknál 5,5–6,5-nek adódott, párisi készítményeknél 7,9–8,3 között volt. Ezt a pontot az érési és romlási folyamat határának tekinthetjük. Nagyobb ingadozásokat találtunk már az általunk feltételezett romlási intervallumra vonatkozóan a hús eredetétől függően. További vizsgálataink során eddigi feltevéseinket nagyszámú modellkísérlet beállításával kívánjuk igazolni, különös tekintettel arra, hogy mennyiben függ a proteolitikus görbe töréspontja a húsfajtától, az állat korától, nemétől vagy a hús zsírtartalmától, továbbá hogy megállapítható-e a proteolitikus koeficiens alapján jellegszám húsok és húskészítmények kezdődő romlottságának megállapítására. A folyamatok

mechanizmusának tanulmányozása céljából szükségesnek tartjuk romlasztási kísérletek során a hús nitrogén egyensúlyának és az egyensúly változásainak részletes vizsgálatát is.

Kísérleteink másik iránya a hús szabad aminosavainak vizsgálata volt. E helyen mellőzve az aminosavakra vonatkozó bő szakirodalom ismertetését, csak egyrészt Greenwood, Kraybill, Schweigert (5), másrészt Schweigert és Guthneck (6) adataira hivatkozunk. Vizsgálataink szerint a különböző

nyers és főtt marha-, illetve sertéshúsok aminosav-összetétele közel azonosnak bizonyult. Az aminosavak hőkezelés során legfeljebb jelentéktelen veszteséget szenvednek. Ez a maximálisan 10%-os veszteség is főként az isoleucin, histidin és szerinnél jelentkezik. Tájékoztató kísérleteinkben a hús vizes, illetve 80%-os alkoholos kivonatában vizsgáltuk papirkromatográfiásan a ninhidrin pozitív alkatrészek alakulását. Marha- és sertéshúsokban, illetve húskészítményekben végzett számos kísérlet alapján arra a megállapításra jutottunk, hogy a hús érése és romlása során a ninhidrin pozitív alkatrészek számában és mennyiségében lényeges és következetes változások mennek

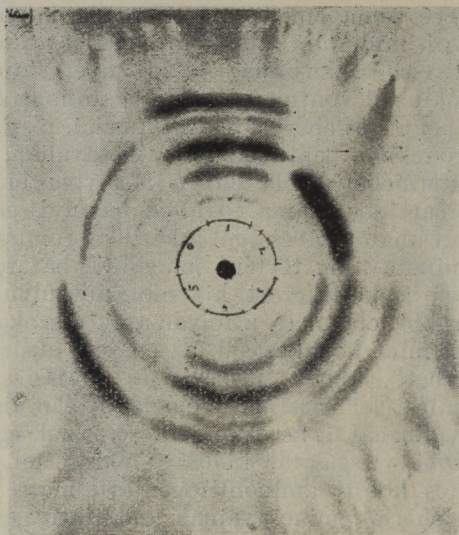


3. ábra. Párisi proteolitikus diagramja

végbe. Általánosságban az érés folyamán a ninhidrin pozitív foltok száma és színintenzitása növekszik. A növekedés bizonyos maximuma után a foltok száma és intenzitása csökken, majd egy minimumot elérve ismét emelkedik, de a maximumot már nem közelíti meg. Ez a minimum általában belesik a kezdődő romlás intervallumának első szakaszába. Az így nyert tapasztalatokból a következő konklúziót vontuk le. Az érés és romlás folyamatában feltétlenül szerepel a húsfehérje részint kémiai, részint bakteriális lebomlása peptonokká, peptidekké, aminosavakká, illetve azok egyszerű bomlástermékeivé. Ha tehát a húskivonatban kimutatott aminosavak és peptidek száma, továbbá mennyisége minimumot ér el, akkor a folyamatok sebességét a kezdődő romlás szakaszában a fehérjének aminosavakig történő lebomlása határozza meg. Ez azt jelenti, hogy a keletkezett kis molekulású peptidek és aminosavak további lebomlása a folyamatok e szakaszában gyorsabban történik, mint keletkezésük az eredeti húsfehérjéből. Ily módon feltételezhető, hogy a hús érési és romlási szakaszában a húsfehérjének, mint élelmiszernek biológiai értéke kisebb-nagyobb mértékben megváltozhat. E kérdés eldöntésére szükséges a nitrogén-egyensúly további vizsgálata, különös tekintettel a vízoldható frakció szabad és kötött aminonitrogéntartalmára vonatkozóan, továbbá a húsfehérje aminosavainak kvalitatív és kvantitatív vizsgálata a modellkísérletek során. A biológiai érték változására, a lebomlási folyamatoknak a hús baktériumflórájától való függésére vonatkozó kísérleteink eredményeit később közöljük.

Már eddigi kísérleteink során is bebizonyosodott, hogy a ninhidrin pozitív anyagok számának és koncentrációjának papírkromatográfiás képéből ki lehet emelni olyan jellemző foltokat, amelyekkel bizonyos mértékig értékelni is lehet a lezajló folyamatok adott helyzetét. E kérdés részletes vizsgálatára olyan papírkromatográfiás módszert kellett keresnünk, amely gyorsan ad eredményt, szelektív és amelynek segítségével egy-egy modellromlasztási kísérlet eredményeit összehasonlítva lehet vizsgálni. Erre a célra az egy dimenziós körkromatográfia bizonyult alkalmasnak. Oldószerül legjobban a fenol—butanol—ecetsav-víz (20 : 20 : 8 : 40) arányú elegye vált be. Ha a vizsgált kivonatot vonalasan vittük fel, a 8—10 órás futási idő alatt éles elválasztást kaptunk. További munkánkat a húsfehérje bomlására jellemzőnek talált három folt azonosítása jelenti. Az azonosítás még bizonyításra szorul, ugyanis nemcsak aminosavak jöhetnek számításba, hanem egyrészt eredetileg is jelenlevő ninhidrin pozitív anyagok, másrészt szekunder bomlástermékek is. Az alkalmazott technikát és az azonosítás végső eredményeit későbbi részletes közleményünk-

ben ismertetjük. Így a modellkísérletek tanúsága szerint módnyílik a hús romlási folyamatainak átfogóbb értékelésére és a húsfehérje adott állapotának gyors diagnosztizálására. A között



4. ábra. Szobahőfokon romlasztott marhahús szabad aminosav kromatogramja. 1. (fent) IV. 27. 2. Arginin-HCL., 3. IV. 28., 4. (alul) IV. 29. 5. (balra lent) Alanin., 6. IV. 30

4. ábra IV. 27. és 30-a között szobahőfokon tárolt marhahús-minta romlásának körkromatogramját adja. A húsminta a romlottsági próbák és érzékszervi vizsgálat alapján 30-án vált pozitívvá. Az 5. ábra fagyasztott sertéshús kromatogramja, amelyet jégszekrényben $+2-+5\text{ }^{\circ}\text{C}$ között romlasztottunk, VI. 3-9-ig. A húsminta VI. 8-án lett isonitril pozitív, de érzékszervileg még romlottságot nem észleltünk. VI. 9-én érzékszervileg is romlottnak bizonyult.

A gyakorlat természetesen e módszerrel szemben is sok nehézséget támaszt. Különbségek adódnak a kromatográfiás képben attól függően, hogy a hús milyen körülmények között romlott meg, sőt valószínű van összefüggés a bakteriális szennyeződés nagyságával és minőségével is. A rutinszerűen elvégzett számos, kb. 60 vizsgálat igazolni látszik a fentebbieket, de bizonyítja a romlási reakciókra tett áltaiános megállapításainkat is. Ez a reakció is, az eddigiekhez hasonlóan, csak számos egyéb vizsgálati adattal közösen értékelve ad megbízható eredményt. Szükség



5. ábra. Jégszekrényben romlasztott fagyasztott sertéshús szabad aminosav kromatogramja. 1—7 (jobbra). A húskivonatok időrendi sorrendben

lenne az egyes befolyásoló tényezők szeparált vizsgálatára. Ez azonban különösen a baktériumflóra minőségének és szaporodásának nehéz befolyásolhatósága, a mennyiségi és minőségi bakteriológiai módszerek nagy szórása miatt szinte megoldhatatlan. További nehézséget jelent a baktériumok biokémiájára vonatkozó ismereteink erősen korlátozott volta.

A hús romlásának értékelését mindig az összes rendelkezésre álló adatok gondos összevetésével kell végeznünk. A hús romlása a proteolízis vizsgálatával viszonylag jól követhető. Ez utóbbira vonatkozóan a nitrogénegyensúly meghatározásával, illetve az aminosavak és más ninhidrin pozitív anyagok kvalitatív és fél-quantitatív vizsgálatával kaphatunk használható adatokat.

- (1) *Beythien, A.*: Laboratoriumsbuch für den Lebensmittel Chemiker. 1951.
- (2) *Tirazuyan, S. M.*: Vopr. Pitaniija. 9. 6, 66, 1940.
- (3) *Lyubin, B. O.—Lebedeva, M. A.*: Vopr. Pitaniija 10. 2, 32, 1941.
- (4) *Paikina, S. Sh.—Podossinnikova, M. P.*: Vopr. Pitaniija 10, 2, 49, 1941.
- (5) *Greenwood, D. A.—Kraybill, H. R.—Schweigert, B. S.*: J. Biol. Chem. 193, 23, 1951.
- (6) *Schweigert, B. S.—Guthneek, B. T.*: J. Biol. Chem. 180, 1077, 1949.

UNTERSUCHUNG DER REIFE- UND VERDERBPROZESSE BEI FLEISCH UND FLEISCHWAREN

B. Kaffehr und Frau K. G. Sárossy

Verfasser empfehlen zur Feststellung des beginnenden Verderbs von Fleisch und zu der Untersuchung des Mechanismus der Verderbprozesse die komplexe Auswertung der Proteolyse des Fleisch-Eiweisses. Die Proteolyse kann vor allem durch Prüfung der löslichen Nitrogenfraktionen verfolgt werden. Bei der papierchromatographischen Prüfung des freien Aminosäuregehaltes von Fleisch sind während der Reife- und Verderbprozesse wesentliche und konsequente Veränderungen wahrnehmbar welche zur objektiven Feststellung des beginnenden Verderbs von Fleisch geeignet sein können.