

VIII

ЕВРОПЕЙСКИЙ КОНГРЕСС РАБОТНИКОВ
И И МЯСНОЙ ПРОМЫШЛЕННОСТИ

th EUROPEAN CONGRESS
OF MEAT RESEARCH INSTITUTES

ter EUROPÄISCHER KONGREß
DER FLEISCHFORSCHUNGSINSTITUTE

ème CONGRES EUROPEEN
DES INSTITUTS DE RECHERCHES
SUR LES VIANDES

M.L.Frumkin, G.L.Pawlowa,
D.P.Dosorez

ÄNDERUNG DER PROTEOLYTISCHEN AKTIVITÄT
DES BESTRAHLTEN FLEISCHES BEI DER
LAGERUNG UND WÄRMEBEHANDLUNG

.N

22

МОСКВА 1962г.

ÄNDERUNG DER PROTEOLYTISCHEN
AKTIVITÄT DES BESTRAHLTEN FLEISCHES BEI DER
LAGERUNG UND WÄRMEBEHANDLUNG

Kand. Techn. Wis. M.L. Frumkin, Ob. wis. Arb.

G.L. Pawlowa, Ob. wis. Arb. D.P. Dosorez

Das Zentral-Forschungsinstitut
der Konserven- und Gemüsetrocknungsindustrie
UdSSR

Die im Laboratorium der Bestrahlungstechnologie des Institutes durchgeführten Untersuchungen ebenso wie die Angaben der Auslands-Gelehrten zeigen, daß bei der Rohfleisch-Bestrahlung mit 1,5 - 2 Mill. Rd die Muskelgewebe-Enzyme recht aktiv bleiben. Deshalb werden im bestrahlten Fleisch bei längerer Lagerung bei Zimmertemperatur die Erscheinungen der aseptischen anaeroben Autolyse mit allmählichem Eiweiß- und Fettezerfall beobachtet. Dabei ändert sich auch die organoleptische Fleischbeschaffenheit.

Um die autolytischen Vorgänge im bestrahlten Fleisch zu vermeiden, sollen entweder die Fermentsysteme inaktiviert oder die Voraussetzungen für deren Hemmung geschaffen werden. Beim Studium sowohl der Hemmungsmöglichkeiten für die autolytischen Vorgänge im bestrahlten Fleisch als auch der Wärmeinaktivierungsmöglichkeit der Fermente wurde besonders auf die Muskeleiweiß-Veränderungen geachtet, die auf die Einwirkung der proteolyti-



Filtrate wurden vor und nach dem Thermostatieren gemessen. Als Substrat wurde Kristallhämoglobin genommen, das nach Sliwinski und Doty (4) mit Harnstoff-Lösung denaturiert wurde. Es wurde solche Harnstoffkonzentration gewählt, die, ohne Ferment zu denaturieren, maximal denaturiertes Substrat ergibt, wodurch die Aktivität der Muskelkathepsine wesentlich ansteigt. Ferner wurden zur Erreichung der höchsten Aktivität entsprechende pH-Werte, Temperatur sowie die Dauer des Thermostatierens festgestellt.

Bekanntlich wird die Proteinase-Aktivität bei 35-37°C maximal ausgedrückt; bei herabgesetzten Temperaturen nimmt die Aktivität dermaßen ab, daß sie praktisch nicht in Erscheinung tritt. Deshalb wurde das bestrahlte Fleisch zur Hemmung der autolytischen Vorgänge bei den Temperaturen von 0 bis +4°C und bei -15°C gelagert. Zum Vergleich wurde das Fleisch auch bei Zimmertemperatur (18-20°C) und 37°C im Thermostat gelagert.

Die Versuche wurden an dem aufgetauten Rindfleisch I. Schlachtklasse angestellt. Das von Knochen und Fettgewebe befreite Rindfleisch wurde in kleine Stücke aufgeschnitten, in Gläser gelegt und unter Vakuum verstopft (300 - 400 mm im Glas).

Die Bestrahlung erfolgte mit γ Strahlen von ^{60}Co , wobei die Dosisleistung 2000 r/Min und die Bestrahlungsdosis 2 Mil.rd. betrug.

Die bestrahlten Proben und Kontrolle wurden vor und unmittelbar nach der Bestrahlung sowie während der Lagerung bei verschiedenen Temperaturen in den Abständen von 30, 80 und 210 Tagen untersucht.

Dabei wurden der Gehalt an Aminoammoniakstickstoff, pH, Proteinase-Aktivität und der Grad der Proteolyse-Autolyse im Fleisch bestimmt. Die Proteolysestufe wurde durch den Ansammlungsgrad von freien Aminosäuren (hauptsächlich von Tyrosin) im Fleisch

schen Fermente zurückzuführen sind. In beiden Fällen war es erforderlich, den Hemmungs- sowie Inaktivierungsgrad der Fermente festzustellen, was am einfachsten anhand der unter Einwirkung der Fermente auf Fleischeiweiße entstehenden Produkte gemacht werden kann.

Es ist zu beachten, daß die proteolytischen Fermente-Muskelkathepsine - eigentlich einige Fermente sind, die, wie in der Literatur angegeben ist, optimale Aktivität bei verschiedenen pH-Werten aufweisen. Darunter sind die Kathepsine, die die optimale Wirkung bei pH 5,4 aufweisen, am meisten aktiv (1). Sie spielen eine wichtige Rolle bei den sich im Fleisch während der Lagerung abspielenden Vorgängen und hängen mit der Fleischkonsistenz und -Geschmack zusammen. Allerdings ist die proteolytische Muskelfermente-Aktivität, die durch die Autolyse- oder Hydrolyseintensität der anderen Eiweißsubstrate bestimmt wird, wesentlich niedriger als die Aktivität solcher Gewebe wie Leber oder Nieren (2). Dies rührt offensichtlich von der Eigenartigkeit und unterschiedlicher Konzentration der Fermente her. Daher erwies sich die früher gültige Methode zur Bestimmung der Gesamtaktivität von Fleischproteinasen durch die Bestimmung des Zuwachses der Aminosäuren-Karboxylgruppen und Peptide mittels der Titrierung in der Spirituslösung als wenig empfindlich.

Als mehr geeignet zeigte sich die modifizierte Ansonsmethode, die auf der spektrophotometrischen Bestimmung der Eiweißhydrolyse-Stoffe in den Filtraten beruht, wobei die letzteren aus Fleischhomogenaten gewonnen werden, nachdem darin die Eiweiße mit Perchloressigsäure gefällt worden sind. Die Messungen wurden mit dem Spektrophotometer -4 bei 279 m μ durchgeführt; gerade bei dieser Wellenlänge erfolgt die maximale Lichtabsorption durch cyclische Aminosäuren und Tyrosin. Die optischen Dichten der

unter Einwirkung von Fermenten bestimmt. Zu diesem Zweck wurde die Veränderung der optischen Dichte der bei 0°C hergestellten Fleischfiltrate gemessen und die proteolytische Aktivität bestimmt (ohne jedoch nachher zu thermostatisieren). Die Meßergebnisse wurden in ml Tyrosin pro 100 g Fleisch ausgedrückt, die nach der aufgestellten Eichkurve berechnet wurden.

Der pH-Wert von Fleisch wurde in den Extrakten potenziometrisch berechnet.

Die Ergebnisse der durchgeführten Messungen sind als 5 Kurven für verschiedene Lagerungstemperaturen auf den Abb. 1-4 dargestellt.

Der Vergleich der Kurven, die die Ansammlung von Aminoammoniakstickstoff im Fleisch während der Lagerung darstellen, mit den Kurven der Tyrosinansammlung ergab, daß sie identisch verlaufen. Das zeugt davon, daß die Aminoammoniakstickstoff-Menge hauptsächlich auf Kosten der Aminosäuren-Freisetzung zunimmt.

Die Aktivität der proteolytischen Fermente wurde als ein relativer Wert berechnet und in Prozent ausgedrückt, wobei für 100% die Aktivität der Rohfleisch-Proteinasen genommen wurde. Der Kurvenverlauf der proteolytischen Aktivitätsveränderung zeigt eine potenziell hohe Aktivität bei der Autolysehemmung und eine niedrigere Aktivität bei der beinahe beendeten Autolyse.

Aus dem Gehalt an Aminoammoniakstickstoff und Tyrosin im Fleisch kann man schließen, daß bei der Temperatur von 0 bis +4°C die autolytischen Vorgänge fast aufhören, während bei höheren Lagerungstemperaturen sie sehr intensiv verlaufen.

Der Inaktivierungsgrad der proteolytischen Fermente wurde auch bei der Vorerwärmung des Fleisches vor der Bestrahlung bestimmt. Das Erwärmen vor der Bestrahlung soll die genügende

195

Fleisch-Inaktivierung und die darauffolgende Bestrahlung - die Fleischsterilität sichern.

Um die Abhängigkeit der Muskelerwärmung vor der Bestrahlung festzustellen, wurde eine Versuchsserie angestellt, dabei wurde das Fleisch bis 75, 77 und 80°C erwärmt.

Alle Versuche wurden an den *M. longissimus dorsi* des gefrorenen Rindfleisches I. Schlachtklasse durchgeführt. Das Fleisch wurde dünn aufgeschnitten; dann wurden aus diesen Stückchen mit einem speziellen Bohrer $\varnothing$ 20 mm Scheibchen entnommen. Die Fleischscheibchen wurden in die Polyäthylen-Beutel luftdicht verpackt und im Wasserthermostat bei verschiedenen Temperaturen von 3 bis 40 Min erwärmt. Nach dem Erwärmen wurde ein Teil von Beuteln durch Eintauchen ins Eiswasser rasch gekühlt. Vor der Bestrahlung wurde im Fleisch die Proteinase-Aktivität für jede Temperatur festgestellt. Die übriggebliebenen wärmebehandelten Beutel wurden γ -bestrahlt, wobei die Dosis 2 Mrad. und die Dosisleistung (60Co) - 2000 r/Min betrug. Die bestrahlten Proben wurden bei 37°C aufbewahrt.

Diese Untersuchungen ergeben die Werte über die Veränderung der relativen Aktivität von proteolytischen Fleischfermenten, die durch die optischen Dichten für verschiedene Temperaturen und Dauer der Erwärmung ausgedrückt werden. Aus dem Kurvenverlauf (Abb.5) ist zu ersehen, daß beim Fleischerwärmen bis 77° in 20 Min eine genügende Fermenten-Inaktivierung erfolgt.

Auf Grund der in diesen Versuchen erhaltenen Angaben haben wir die Abhängigkeit der Proteinase-Aktivität (als optische Dichte) von der Erwärmungstemperatur für jede Behandlungsdauer in Kurven ausgedrückt. Die Abb.6 stellt die Inaktivierungskurve

für das 3 Min lange Erwärmen dar (ähnlich können auch die Kurven für das Erwärmen während 8,13 Min. usw. aufgestellt werden). Die Aktivität der Fleischfermete vor dem Erwärmen, durch optische Dichte ausgedrückt, betrug dabei 426.

Die proteolytische Aktivität wurde im bestrahlten (vorher bis 77°C erwärmten) und während 6 Wochen bei 37°C gelagerten Fleisch bestimmt. Die dabei erhaltenen Werte sind aus der Tabelle ersichtlich.

Die Aktivitätsveränderung von Fleischproteinasen vor und nach der Bestrahlung je nach der Erwärmdauer bei 77°C.

Probe-Bezeichnung	Erwärmungs- dauer	:Optische Dichten vor der Be- strahlung			:	:Optische Dichten : nach der Be- strahlung und 6-wöchigen La- gerung			:	:Aktivität in % zum Roh- fleisch			:	:Aktivität in % zum Roh- fleisch		
		Nach dem Ther- mo- sta- tie- ren	Vor dem Ther- mo- sta- tie- ren	Diffe- renz		Nach dem Ther- mo- sta- tie- ren	Vor dem Ther- mo- sta- tie- ren	Diffe- renz		Nach dem Ther- mo- sta- tie- ren	Vor dem Ther- mo- sta- tie- ren	Diffe- renz		Nach dem Ther- mo- sta- tie- ren	Vor dem Ther- mo- sta- tie- ren	Diffe- renz
Unbestrahltes Rohfleisch		895	469	426		100,0	-	-		-	-	-		-	-	-
Erwärmtes Fleisch - 3 Min		712	537	175		41,0	1000	910	90	21,1						
" - 8 "		572	546	26		6,1	790	770	20	4,7						
" - 13 "		561	546	15		3,2	783	774	9	2,1						
" - 23 "		515	515	0		0	767	771	0	0						
" - 33 "		570	570	0		0	703	707	0	0						

Die in der Tabelle dargestellten Werte zeugen von der Aktivitätssenkung der Muskelproteinasen mit der Erhöhung der Erwärm-

mungsdauer bei gegebener Temperatur. Die Termentenaktivität des unbestrahlten Fleisches macht 100% aus. Infolge der Bestrahlung nimmt mit jeder Erhöhung der Erwärmungsdauer die Fermentenaktivität bei nachfolgender Lagerung entsprechend ab.

Also unter gewissen Voraussetzungen können die Fleischfermente durch das Erwärmen praktisch inaktiviert werden, was die Lagerung von bestrahltem Fleisch ohne autolytische Veränderungen ermöglicht.

Schlußfolgerungen

1. Die Aktivitätsbestimmung der Muskelkathepsine nach der modifizierten Methode von Anson ergab die Möglichkeit deren Anwendung zur Untersuchung des Inaktivierungsgrades der Fermente bei der Bestrahlung und Wärmebehandlung von Fleisch.

2. Die Lagerung des bestrahlten Fleisches bei der Temperatur von 0 bis $+4^{\circ}\text{C}$ während 7 Monate hemmt die autolytischen Vorgänge, die unter dem Einfluß der proteolytischen Fermente vor sich gehen.

3. Durch das Vorerwärmen werden die Muskelkathepsine praktisch inaktiviert, wodurch die Möglichkeit zur Lagerung des bestrahlten Fleisches bei Zimmertemperatur ohne Autolyse geschaffen wird.

Literatur

1. Greenbaum, L., Truton J. "J. biol. chem.", 226, I, 1957, 173.
2. Zender, Lataste-Dorolle, Raduco-Thomas a.ors., A/conf.
15/p/258/Add.I,
1958, Швейцария.

3. Кузовлева О.Б. "Биохимия", вып. 3, 24, 1959, 550,
4. Sliwinski R., Doty D. "J. agr. food chem.", 7, II, 1959,

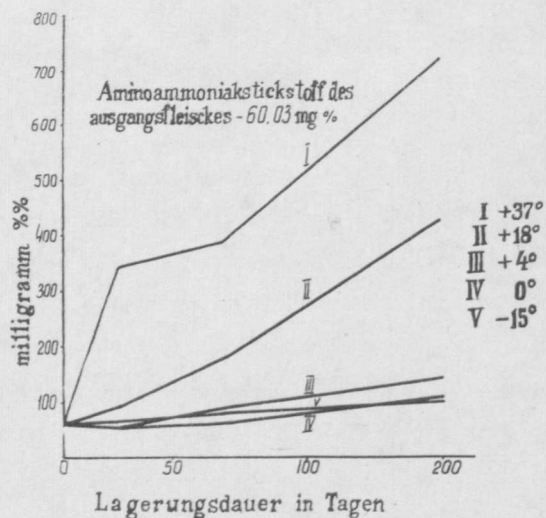


Abb. 1. Änderungen des Aminoammoniakstickstoffes
im Fleisch während der Lagerung bei
verschiedenen Temperaturen.

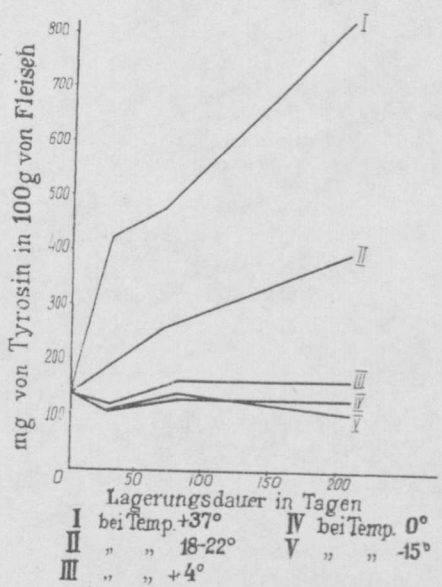


Abb. 2. Änderungen des Tyrosins im Fleisch während der Lagerung bei verschiedenen Temperaturen.

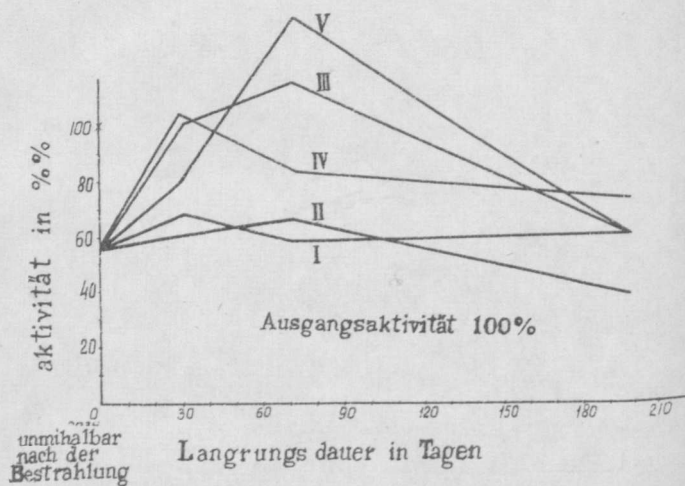


Abb.3. Änderungen der Protein-Aktivität im Fleisch während der Lagerung bei verschiedenen Temperaturen.

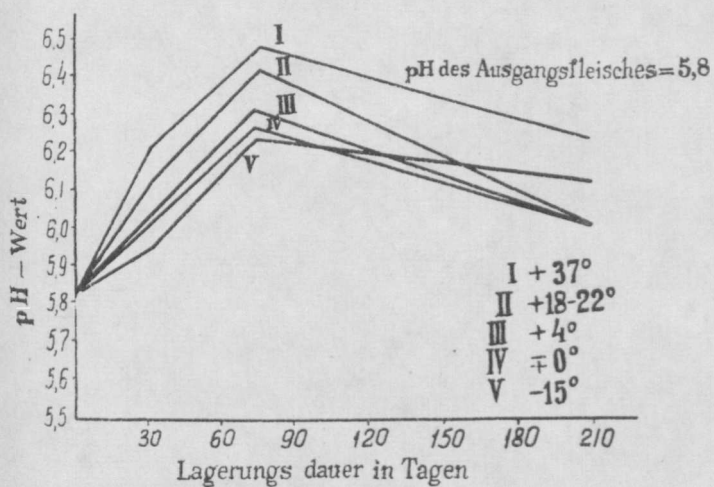


Abb.4. pH - Änderungen im Fleisch während der Lagerung.

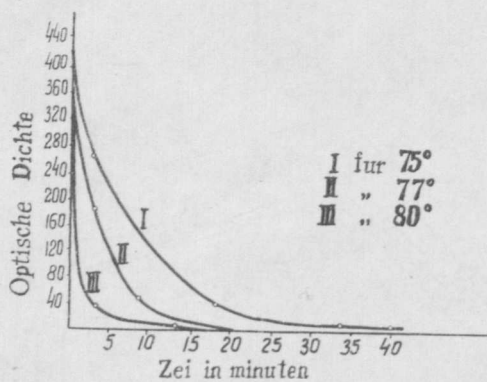


Abb. 5

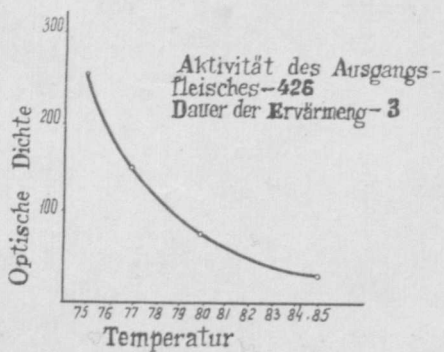


Abb. 6