

Aus dem Institut für Tierphysiologie der Universität München
(Vorstand: Prof. Dr. Dr. Johs. Brüggemann)

und dem

Institut für Nahrungsmittelkunde der Tierärztlichen Fakultät der
Universität München
(Vorstand: Prof. Dr. L. Kotter)

Über den Einfluß des Kollagenanteils im Fleisch auf
Ganzkörperzusammensetzung und Entwicklung wachsender
Ratten. Vorläufige Mitteilung.

H. Erbersdobler, R. Wellhäuser und G. Pfeiffer (Referent)

Kollagenes Eiweiß ist auf Grund seiner Aminosäurezusammensetzung ernährungsphysiologisch weniger wertvoll als Muskelprotein. Einem hohen Gehalt an nichtessentiellen Aminosäuren stehen Mindergehalte an fast allen wertbestimmenden Aminosäuren, vor allem an Tryptophan und Cystin gegenüber. Von Brüggemann und Kotter mit Mitarb. war bereits 1964 (3) zur ernährungsphysiologischen Bewertung des Kollagens berichtet worden. Es wurde festgestellt, daß bei Ersatz von Muskeleiweiß durch Kollagen bis zu einem Anteil von etwa 20 % Schwartenprotein im Gesamtprotein der Futtermischung (80 % Muskeleiweiß, 20 % Getreideeiweiß) die Gewichtszunahmen wachsender Ratten nicht negativ beeinflusst wurden. Durch Schwartenzulagen waren sogar erhöhte Gewichtszunahmen zu erzielen, wenn zu vollwertigem Grundfutter mit 18 % Rohprotein bis zu 4 % Schwartenprotein zugesetzt wurden. Rohe Schwarten wurden ebenso gut verwertet wie gekochte. Höhere Schwartenzulagen hatten zu einem geringgradig erhöhten, jedoch nicht signifikanten Bindegewebsansatz im Rattenkörper geführt. Die Vorstellung, wonach schieres Fleisch in der Ernährung des Menschen einem Fleisch mit mäßigem Gehalt an Sehnen- und Bindegewebe unter allen Umständen vorzuziehen ist, kann damit vorerst nicht aufrecht erhalten werden.

Nach Ferrando u. Mitarb. (10) traten nach Verfütterung von zusammen mit 10 % Sehnenprotein erhitztem Muskelprotein deutliche Minderzunahmen, Lebernekrosen und eine hohe Mortalitätsrate der Ratten auf. Ergebnisse von Aminosäureanalysen ließen nicht auf Aminosäurenmangel oder Aminosäurenimbilanz als Ursache schließen (11). Durch Zulagen reiner Aminosäuren waren die Gewichtszunahmen nicht wesentlich zu verbessern (12).

Allerdings sind die meisten der bisher üblichen Aminosäurebestimmungsmethoden bei hitzegeschädigten Proteinen nur bedingt brauchbar, da die Verfügbarkeit der Aminosäuren nicht berücksichtigt wird. Mehrfach wurde festgestellt, daß bei hitzegeschädigten Proteinen nur eine geringe Übereinstimmung des Aminosäuremusters mit der tatsächlichen im Tierversuch ermittelten Proteinqualität besteht (z.B. 5, 18, 20). Ferrando u. Mitarb. (12) führten die geringen Gewichtszunahmen, die hohe Mortalität sowie die Lebernekrosen auf den Einfluß toxischer Substanzen zurück, die durch Reaktion des Glukosamins im Kollagen mit dem Protein bei entsprechendem Erhitzen als Folge der sogenannten Maillardreaktion entstehen sollen. In weiteren Versuchen wurde daher Muskelfleisch zusammen mit 5 - 20 % Glukosamin bei 90°C getrocknet und als alleinige Proteinquelle (13 % Muskelprotein) wachsenden Ratten gefüttert. Da besonders bei den hohen Glukosaminzusätzen erneut Lebernekrosen und hohe Mortalität auftraten, sahen Ferrando u. Mitarb. ihre Hypothese bestätigt (13, 14). Allerdings traten auch Todesfälle bei den Kontrollgruppen auf.

Über toxisch wirkende Substanzen, die beim Erhitzen von Aminosäuren mit Glukose entstehen, berichtet Lang (21). Die bei praxisüblicher Hitzebehandlung von Lebensmitteln zu erwartenden Mengen solcher toxischer Produkte sind nach Lang jedoch keineswegs besorgniserregend.

Lebernekrosen bei Ratten konnte Fink (16) nach Fütterung hitzegeschädigter Trockenmagermilch beobachten. Toxische Produkte aus der Maillardreaktion wurden jedoch als Ursache ausgeschlossen und als entscheidender Faktor Selenmangel nachgewiesen (15). Schwarz (28) bezeichnet die Leber der Ratten als die Prädi-

lektionsstelle, an der sich Mangel an Vitamin E und Selen in Form von Nekrosen manifestieren. Neben dem Vitamin E und Selen kommt auf Grund seines Vitam-E-sparenden Effekts auch dem Cystin entscheidende Bedeutung zu. Bei ausreichendem Cystinangebot wurde nur ein Zehntel der Vitamin E-Mengen zur Vermeidung von Lebernekrosen benötigt, eine direkte Wirksamkeit des Cystins war nicht nachzuweisen. Bedauerlicherweise haben Ferrando und Mitarb. keine Angaben über den Vitamin E-Gehalt der Rationen gemacht und auch den Einfluß zusätzlicher Gaben nicht geprüft.

Cystin wird neben Lysin bei der Erhitzung von Proteinen vor allen anderen Aminosäuren leicht zerstört, und zwar besonders in Gegenwart von Kohlehydraten (23, 24, 25). Bedeutungsvoll ist vor allem auch die erhebliche Beeinträchtigung der Verfügbarkeit von Lysin, Methionin und anderen wertbestimmenden Aminosäuren (29, 24).

Eigene Versuche

In Fortführung der Arbeiten von Brüggemann und Kotter mit Mitarb. (3) sollten in vorliegenden Versuchen vor allem folgende Fragen geklärt werden:

1. Können Kollagenzulagen zu vollwertigem Futter den Bindegewebsansatz im Rattenkörper fördern,
2. welchen Einfluß haben Mischungen aus schierem Fleisch und kollagenem Gewebe auf das Wachstum junger Ratten,
3. können beim Erhitzen von Muskelprotein zusammen mit Sehnen, Glukosamin und Glukose toxisch wirksame Produkte der Maillardreaktionen entstehen?

Um diese Fragen zu klären, wurden bisher 5 Versuche durchgeführt.

Versuchsanlage 1

Zunächst wurde untersucht, wie sich die Zulage eines verhältnismäßig hohen Anteils an Bindegewebsprotein auf den Bindegewebsansatz, die Gewichtszunahmen und die Futtermittelverwertung wachsender Ratten auswirkt. Es handelt sich hier um eine erweiterte Wiederholung einer Versuchsanordnung von Brüggemann und Kotter mit Mitarb. (3).

Der Fütterungsversuch wurde mit wachsenden männlichen Ratten nach den Richtlinien des Arbeitskreises für Proteinbewertung der Gesellschaft für Ernährungsphysiologie der Haustiere (2) durchgeführt. Die Versuchsdauer betrug 4 Wochen. Die Ratten (20 je Versuchsgruppe) wurden in Einzelkäfigen gehalten, die Futter- und Wasseraufnahme erfolgte ad libitum. Die Tiere wurden wöchentlich gewogen. Die Diät bestand aus 20 % Maisschrot, 18 % Rohprotein entsprechendem Muskelfleisch, 5 % Sojaöl, 0,5 % Molkenpulver, 2 % Fischpresssäfte, 0,5 % Natriumchlorid, 2 % Vitamin-Spurenelement-Vormischung, Maisstärke ad 100,0. Über die Vormischung enthielt das Futter unter anderem 5000 i.E. Vit. A und 40 mg Vit. E/kg als α -Tocopherolacetat (siehe dazu auch (3)).

Die Zugabe der Sehnen (entsprechend 10 % Rohprotein = N x 6,25) erfolgte auf Kosten der Maisstärke. Folgende Gruppeneinteilung wurde gewählt:

Gruppe	I	II	III
% Muskelprotein	18	18	18
% Sehnenprotein, roh	-	10	-
% Sehnenprotein, gekocht	-	-	10
% Gesamtprotein (N x 6,25) im Futter	23,1	32,8	31,3

Nach Beendigung des Fütterungsversuches erhielten die Ratten für die Dauer von 42 Stunden ein kollagenfreies Futter (Casein + Methionin als Proteinquelle). Anschließend wurde das Futter

entzogen, die Tiere nach 6 Stunden getötet und bis zur Analyse bei -20°C aufbewahrt.

Versuchskriterien waren die Gewichtszunahmen, die Protein Efficiency Ratio (PER = g Zunahme pro g Proteinaufnahme) sowie die Gehalte an Rohprotein und Bindegewebe im Rattenkörper.

Die Ermittlung des Bindegewebeiseiweißgehaltes erfolgte über die Bestimmung des Oxyprolin- und Glykokollgehaltes und nach folgenden Berechnungen (1)

$$\text{I) Bindegewebe} = \frac{\% \text{ Oxyprolin} \times 8 \times 100}{\% \text{ Rohprotein}}$$

$$\text{II) Bindegewebe} = \left(\frac{\% \text{ Glykokoll} \times 100}{\% \text{ Rohprotein}} - 2 \right) \times 4,5$$

Versuchsanlage 2

In den folgenden Versuchen wurde geprüft, welchen Einfluß eine Erhitzung von Muskelprotein zusammen mit Glukosamin, Glukose und Sehnen auf den Gehalt an verfügbarem Lysin und auf die Entwicklung wachsender Ratten hat. Das verfügbare Lysin wurde chemisch nach der Dinitrofluorbenzolmethode (sogenanntes DNFB-verfügbares Lysin) bestimmt (4,5). Die Fütterungsversuche erfolgten nach den genannten Richtlinien (2). Die Ratten (10 je Gruppe) erhielten ein Futter, in dem das Muskelprotein (mit und ohne die jeweiligen Zusätze) zu 13 % enthalten war.

Die Futterzusammensetzung war: 25 % Rohrzucker, 13 % Muskelprotein entsprechendes Muskelfleisch, 10 % Glukose, 4 % Cellulosepulver, 2 % raff. Sojaöl, 2 % Vitamin-Spurenelement-Vormischung, 1,4 % Dicalciumphosphat, 1,4 % Calciumcarbonat, 0,5 % Natriumchlorid, ad 100,0 Maisstärke. Das Futter enthielt über die Vormischung u.a. 5000 i.E. Vit.A und 40 mg Vit. E/kg als L-Tocopherolacetat. Die Zusätze bei den verschiedenen Gruppen erfolgten auf Kosten der Maisstärke.

Folgende Gruppeneinteilung wurde gewählt:

Gruppe

- 1 Fleisch getrocknet (bei 90°C)
- 2 Fleisch autoklaviert (20 min bei 120°C) und getrocknet (wie bei 1)
- 3 Fleisch wie bei Gruppe 1 + 10 % Glukosamin⁺)
- 4 Fleisch wie bei Gruppe 2 + 10 % Glukosamin⁺)
- 5 Fleisch zusammen mit 10 % Glukosamin⁺) getrocknet (wie bei 1)
- 6 Fleisch zusammen mit 10 % Glukosamin⁺) autoklaviert (wie bei 2)
- 7 Fleisch zusammen mit 10 % Glukose⁺) getrocknet (wie bei 1)
- 8 Fleisch zusammen mit 10 % Glukose⁺) autoklaviert (wie bei 2)
- 9 Fleisch wie bei Gruppe 2 + Sehnen⁺⁺) autoklaviert (wie bei 2)
- 10 Fleisch zusammen mit Sehnen⁺⁺) autoklaviert (wie bei 2)
- 11 Fleisch zusammen mit 10 % Glukosamin⁺) (wie bei 5) + 5 % "Caseinprotein"*)
- 12 Fleisch zusammen mit 10 % Glukosamin (wie bei Gruppe 6) + 5 % "Caseinprotein"*)

+) Als Glukosaminhydrochlorid molekularäquivalent zur Glukose (Molekulargewicht 180,1) auf Fleischtrockensubstanz bezogen

++) 13 Teile Muskelprotein, 4 Teile Sehnenprotein

*) Gemisch aus 93,8 Teilen Casein, 4 Teilen DL-Methionin + 2 Teilen L-Lysin + 0,2 Teilen L-Tryptophan

Versuchskriterien waren die Gewichtszunahmen, die Futtermittelnutzung sowie die Protein Efficiency Ratio (PER). Die Entwicklung der Ratten wurde mit den Gehalten der entsprechenden Proteinchargen an DNFB-verfügbarem Lysin verglichen.

Versuchsanlage 3

Der Versuch stellt eine Wiederholung von Versuch 2 unter stark verschärften Bedingungen dar. Die Glukosaminkonzentration wurde auf 20 % erhöht, sämtliche Fleischmischungen wurden 20 Mi-

nuten bei 120°C autoklaviert und anschließend im Luftstrom bei 105°C getrocknet. In den verschiedenen getrockneten Proteinchargen wurde zusätzlich zum Gehalt an DNFB-verfügbarem Lysin der Gehalt an Cystein ermittelt. Das Cystein wurde nach Oxydation zu Cysteinsäure (26) mittels einer Apparatur zur automatischen Bestimmung der Aminosäuren nach dem Prinzip der Ionenaustauschchromatographie (29) bestimmt.

Folgende Gruppeneinteilung wurde getroffen:

Gruppe

- 1 Fleisch getrocknet
- 2 Fleisch (wie 1) + 20 % Glukosamin⁺)
- 3 Fleisch zusammen mit 20 % Glukosamin⁺) getrocknet
- 4 Fleisch zusammen mit 20 % Glukose⁺) getrocknet
- 5 Fleisch getrocknet + Sehnen⁺⁺) getrocknet
- 6 Fleisch zusammen mit Sehnen getrocknet
- 7 Fleisch (wie 3) + 8 % "Casein"*)

⁺) Bezogen auf Fleischrockensubstanz molekularäquivalent zur Glukose (Molekulargewicht 180,1)

⁺⁺) 13 Teile Muskelprotein, 5 Teile Sehnenprotein

*) Gemisch aus 94 Teilen Casein, 4 Teilen DL-Methionin, 2 Teilen L-Lysin

Versuchsanlage 4

Aus 50 Ratten, die bereits 14 Tage lang die Ration "Fleisch plus 20 % Glukosamin getrocknet" erhalten hatten, wurden 20 Tiere ausgewählt und in 2 Gruppen (je 10 Ratten) geteilt. Eine Gruppe erhielt weiterhin das Futter "Fleisch zusammen mit 20 % Glukosamin getrocknet", dasjenige der anderen wurde mit 0,25 % L-Lysin (als L-Lysinhydrochlorid) supplementiert. Da dieser Versuch 4 gleichzeitig mit dem folgenden Versuch 5 durchgeführt wurde, kann die Gruppe "Fleisch getrocknet" für

die Gewichtszunahmen im entsprechenden Versuchszeitraum als Vergleich herangezogen werden.

Versuchskriterien waren die Gewichtszunahmen, die Futterverwertung und die PER.

Versuchsanlage 5

Zwei Gruppen (je 30 Ratten) erhielten ein Futter, das in der Zusammensetzung den Rationen der vorangegangenen Versuche entsprach, dem jedoch kein Vitamin E zugesetzt wurde. Auch wurde bei den Mineralstoffen auf weitestgehende Reinheit geachtet, um den Selengehalt des Futters gering zu halten. Folgende Gruppierung wurde gewählt:

Gruppe

- 1 Fleisch autoklaviert und getrocknet
- 2 Fleisch zu ammen mit Glukosamin autoklaviert und getrocknet.

Versuchskriterien waren die Gewichtszunahmen und die Mortalität der Tiere.

Ergebnisse und Diskussion

Der Einfluß eines höheren Kollagengehalts im Futter auf die Entwicklung und den Bindegewebsansatz bei wachsenden Ratten geht aus Tabelle 1 und 2 hervor. Durch Zusätze von 4 % Sehnenprotein zu 13 % Muskelprotein (Anteil des Sehnenproteins am Gesamtprotein des Futters 24 %) waren die Gewichtszunahmen und die Futterverwertung der Ratten noch etwas zu verbessern. Damit werden die Ergebnisse von Brüggemann und Kotter mit Mitarb. (3) ergänzt bzw. bestätigt.

Tabelle 1

Einfluß von Sehnenproteinzulagen zu Rationen mit 13 % Muskelprotein auf Entwicklung und Bindegewebsansatz wachsender Ratten

Versuchsgruppen (s. Versuchsanzl. 2)	1 Fleisch	11 Fl.+Casein	9 Fl.+Sehnen	10 Fl.+Sehnen
Zunahmen in g/Tier und 28 Tagen (relativ)	135 (100)	135 (100)	144 (107)	148 (110)
PER	--	--	1.91	1.92

Analysenwerte der
Rattenkörper:

Rohprotein in %	19,32	19,24	18,77	19,10
Oxyprolin (g/16g N)	2,67	2,82	2,98	2,77
Bindegewebsseiweiß in % Rohprotein	21,4	22,5	23,8	22,2
Glykokoll (g/16g N)	6,33	6,11	6,14	6,02
Bindegewebsseiweiß in % Rohprotein	19,5	18,5	18,6	18,1

Durch Zusätze von 10 % Sehnenprotein zu einer vollwertigen Ration (18 % Muskelprotein, 2 % Getreideprotein, 2 % Protein sonstiger Herkunft) wurden dagegen die Gewichtszunahmen bereits deutlich vermindert (s. Tabelle 2). Der Anteil des Kollagenproteins am Gesamtprotein betrug in diesem Versuch 31 %. Die Gewichtsdepression ist etwas deutlicher als im analogen Versuch von Brüggemann und Kotter mit Mitarb. (3). Dies dürfte vor allem darauf zurückzuführen sein, daß bei den vorliegenden Versuchen anstelle von geschabtem, also weitgehend von Bindegewebe befreitem Muskelprotein nur grob entsehntes Fleisch verwendet wurde. Möglicherweise ist auch Kollagen von Sehnen ernährungsphysiologisch weniger wertvoll als Kollagen aus Schwarten.

Tabelle 2

Einfluß von Sehnenproteinzulagen zu vollwertigen Rationen auf Entwicklung und Bindegewebsansatz wachsender Ratten

Versuchsgruppe (s. Versuchsanlage 1)	1	2	3
	Muskelprotein	M.+Sehnen roh	M.+Sehnen gek.
Zunahmen in g/Tier und 28 Tagen (relativ)	175 (100)	166 (95)	150 (80)
PER	-	1,34	1,35
Analysenwerte der Rattenkörper:			
Rohprotein in %	19,44	19,71	19,61
Oxyprolin (g/16gN)	2,93	2,80	2,63
Bindegewebsprotein in % Rohprotein	23,0	22,4	21,0
Glykokoll (g/16g N)	6,15	6,04	6,27
Bindegewebsprotein in % Rohprotein	18,9	18,2	19,7

Auf den Bindegewebsansatz im Rattenkörper hatten die Zulagen von Sehnenprotein keinen Einfluß. Daß sich aus dem Glykokollgehalt geringere Bindegewebsproteinwerte ergeben als über denjenigen des Oxyprolins, dürfte darauf zurückzuführen sein, daß die in der Berechnungsformel (s. S. 5) abzuziehenden 2 %-Muskeleiweiß-Glykokoll der Gegebenheit bei den Ratten nicht gerecht werden. Wahrscheinlich auch deshalb nicht, weil der tatsächliche Glykokollgehalt der bindegewebsfreien Skelettmuskulatur infolge des im jugendlichen Tierkörper stärker als beim ausgewachsenen Tier ausgeprägten Bindegewebsanteiles absolut niedriger ist. Die von Brüggemann und Kottar mit Mitarb. (3)

gefunden, allerdings nicht gesicherte Erhöhung des Oxypro-
lingehaltes im Rattenkörper nach Verfütterung hoher Kollagen-
anteile kann durch die vorliegenden Ergebnisse aus Untersu-
chungen an insgesamt 100 Ratten nicht bestätigt werden. Auch
die Glykokollbestimmungen haben keine Unterschiede im Binde-
gewebsgehalt der Ratten bei den verschiedenen Gruppen ergeben.

In nachstehend besprochenen Untersuchungen wurde der Einfluß
des Erhitzens von schierem Fleisch zusammen mit Sehnen, Glu-
kosamin und Glukose auf die Entwicklung wachsender Ratten ge-
prüft.

Aus zahlreichen Angaben im Schrifttum (z.B. 8, 9, 17, 22, 23,
27, 30) und aus Ergebnissen eigener Versuche (5, 6, 7) waren
als Folge der Hitzetrocknung von Fleisch zusammen mit redu-
zierenden Monosachariden erhebliche Verluste an Lysin und an-
deren wertbestimmenden Aminosäuren zu erwarten. Als Indikator
für das Ausmaß einer solchen Proteinschädigung ist der Gehalt
an DNFB-verfügbarem Lysin in hervorragender Weise geeignet
(4, 5, 7, 24).

Darüberhinaus war auch von Interesse, inwieweit toxische Pro-
dukte für die von Ferrando und Mitarb. festgestellte Mortali-
tät der Ratten in Frage kommen. In Versuch 1 wurde daher zur
Prüfung der spezifischen Wirkung des Glukosamins nach den An-
gaben von Ferrando und Mitarb. (13, 14) schieres Fleisch mit
Glukosamin erhitzt. Verglichen wurde Fleisch, das mit mole-
kularäquivalenten Mengen an Glukose erhitzt wurde.

Wie aus dem Ergebnis des Versuchs 2 (Tabelle 3) ersichtlich
ist, wurden die Gehaltswerte an verfügbarem Lysin infolge
Erhitzung von Fleisch zusammen mit Glukosamin deutlich ver-
ringert. Entsprechend wurde die Entwicklung der Ratten be-
einträchtigt. Noch ungünstiger beeinflusst wurde die Protein-
qualität des Fleisches durch die Erhitzung mit Glukose. Da-
mit dürfte feststehen, daß bei Erhitzung von Fleisch zusam-
men mit Glukosamin keine höheren Proteinschädigungen auf-

treten, als sie bei Erhitzung in Gegenwart von Glukose zu erwarten sind.

Tabelle 3

Gehalt an verfügbarem Lysin (g/16 g N Muskelprotein) in Vergleich mit der Gewichtsentwicklung wachsender Ratten (Versuchsanlage 2)

Gruppe	% verf. Lysin (g/16g N)	g Zunahmen/Tier in 28 Tg.	g Futter/g Zunahme	FER (relat.)
1 Fleisch getrock.	8,0	135	3,31	2,56 (100)
2 Fl. autoklaviert	8,0	133	3,29	2,57 (100)
3 wie 1 + Glukosamin	8,0	128	3,31	2,67 (104)
4 wie 2 + Glukosamin	8,0	127	3,35	2,62 (102)
5 Fl. + G.amin getr.	6,9	112	3,63	2,34 (91)
6 Fl.+G.amin autokl.	6,3	117	3,56	2,29 (89)
7 Fl.+Glukose getr.	4,5	124	3,56	2,22 (86)
8 Fl.+Gluk. autokl.	3,9	110	4,23	2,06 (80)
9 Fl.+Sehnen	—	144	5,05	1,91 (74) ^{*)}
10 Fl.+Seh. autokl.	6,91	148	3,02	1,92 (75) ^{*)}
11 wie 5 plus Casein	—	135	3,24	1,74 (68) ^{*)}
12 wie 6 plus Casein	—	132	3,09	1,76 (68) ^{*)}

+) *) Die FER-Werte sind nur untereinander vergleichbar, da die entsprechenden Futterrationen zusätzliches Protein und damit einen höheren Proteingehalt aufweisen.

Weiterhin war zu prüfen, ob die auftretenden Minderzunahmen durch Zugabe von Caseinprotein zum hitzgeschädigten Muskelprotein auszugleichen sind. Beim Vorliegen eines toxischen Prinzips als Ursache der Wachstumsdepression mußte die Caseinergänzung erfolglos sein. Dagegen war zu erwarten, daß ein Mangel an verfügbaren essentiellen Aminosäuren oder

eine Aminosäureimbilanz durch die Caseinzugabe wenigstens teilweise ausgeglichen wird.

Die Ergebnisse zeigen, daß die Minderzunahmen durch das Casein vollständig ausgeglichen bzw. sogar geringgradig verbessert wurden. Vor allem wurde auch die Futterverwertung durch die Caseinzulagen günstig beeinflusst. (Vgl. Gruppen 3 und 4 mit 11 und 12).

Demnach ist eine entscheidende Beeinflussung der Entwicklung wachsender Ratten durch direkt toxisch wirksame Substanzen nicht erfolgt.

Die Auswirkung der Sehnenzugabe zum Muskelprotein wurde bereits besprochen. Es sei hier noch darauf hingewiesen, daß kein Unterschied bestand, ob die Sehnen dem Muskelfleisch erst nach dem Trocknen zugegeben oder zusammen mit dem Fleisch getrocknet wurden.

Bei Versuch 2 waren keine Todesfälle zu verzeichnen. Bei der histologischen Untersuchung von Leberproben wurden bei keiner der Gruppen pathologische Veränderungen festgestellt.⁴⁾

Die Wiederholung des besprochenen Versuchs mit verschärften Bedingungen (20 % Glukosamin und Glukose, intensivere Hitzetrocknung, s. Versuchsanlage 3), ergab, wie aus Tabelle 4 zu ersehen ist, eine wesentlich stärkere Proteinschädigung. Wie in Versuch 2 sind die Gehaltswerte an verfügbarem Lysin mit den Gewichtszunahmen gut korreliert. Auch in diesem Versuch bewirkte Glukose stärkere Proteinschädigung als Glukosamin. Diese Feststellung wird durch Angaben im Schrifttum bestätigt, wonach bei der Maillardreaktion am raschesten die Pentosen, gefolgt von der Glukose reagieren (17, 19). Durch die Caseinzulagen wurde die geminderte Proteinqualität des hitzege-

⁴⁾ Dem Institut für Tierpathologie der Universität München, besonders aber Herrn Univ. Doz. Dr. Weiß wird für die Durchführung der histologischen Untersuchungen sehr herzlich gedankt.

schädigten Gemisches aus Fleisch und Glukosamin ausgeglichen. Die Zulagen von Sehnenprotein (5 statt 4 % bei Versuch 2) bewirkten eine geringe Verbesserung von Gewichtszunahme und Futtermwertung. Die Erhitzung von Sehnen zusammen mit Muskelprotein beeinträchtigte die Entwicklung der Ratten nicht. Todesfälle waren auch in diesem Versuch bei keiner Versuchsgruppe zu verzeichnen.

Tabelle 4

Gehalte an Cystin und verfügbarem Lysin (g/16 g N Muskelprotein) in Vergleich mit der Entwicklung wachsender Ratten (Versuchsanzl. 3)

Gruppe	% Cystin (g/16 g N)	% verf. Lysin (g/16 g N)	g Zunah- men/Tier in 28 Tg.	g Futter/ g Zunahm- me	PER (relat.)
1 Fleisch getrocknet	1,0 ⁺⁾	8,0	157	3,09	2,52 (100)
2 Fl. wie 1+ Glukosamin	1,0	8,0	142	3,31	2,34 (93)
3 Fl.+Gl.amin getrocknet	0,6	5,9	103	3,91	2,00 (79)
4 Fl.+Glukose autoklav.	0,8	3,4	78	5,18	1,56 (62)
5 Fl. wie 1 plus Sehnen	---	---	162	2,94	1,87 (74) ^{*)}
6 Fl.+Sehnen autoklav.	---	---	162	2,88	1,94 (77) ^{*)}
7 Fl. wie 3 plus Casein	---	---	158	2,93	---

⁺⁾ Die nichterhitzte gefriergetrocknete Vergleichsprobe enthielt 1,4 % Cystein.

^{*)} Die Werte sind nur untereinander vergleichbar, da die Futterrationen zusätzlich Sehnenprotein und damit höhere Rohprotein-gehalte enthielten.

Besonders hingewiesen sei noch auf das Ergebnis der Cysteinbestimmung. Der Cysteingehalt von 1,4 % im gefriergetrockneten Muskelprotein verminderte sich bei Hitzetrocknung des Fleisches auf 1,0 % und bei der Trocknung in Gegenwart von Glukosamin auf fast ein Drittel des Ausgangsgehaltes. Dies stimmt gut mit Angaben im Schrifttum überein (23, 24). Interessant ist, daß beim Erhitzen des Fleisches mit Glukose Cystin im Gegensatz zu Lysin weniger geschädigt wird als durch Glukosamin.

Da die beiden vorhergehenden Versuche ergeben hatten, daß durch Zulagen von Caseinprotein die Minderzunahmen der Ratten auszugleichen waren, wurde ein Supplementierungsversuch mit Lysin durchgeführt, dessen Ergebnisse in Tabelle 5 zusammengefaßt sind.

Tabelle 5

Einfluß einer Lysinsupplementierung auf die Entwicklung wachsender Ratten (Versuch 4)

Gruppe	g Zunahme/Tier in 14 Tg. (relat.)	g Futter/ g Zunahme	PER (relativ)
1 Fleisch getrocknet	62,5 (100)	---	---+)
2 Fl.+Glukosamin getr.	44,8 (72)	4,9	1,46 (100)
3 wie 2 plus 0,25 % Lysin	52,4 (84)	4,6	1,54 (105)

+) Die PER für diese Gruppe war aus versuchstechnischen Gründen nicht zu berechnen.

Zwar wurde die Proteinqualität durch Zugabe von Lysin tatsächlich etwas verbessert, jedoch diejenige des ohne Glukosamin getrockneten Muskelproteins keineswegs erreicht. Daraus resultiert, daß neben dem Lysin noch andere Aminosäuren erheblich geschädigt wurden.

Ausgehend von Schwarz (28) und dem Ergebnis von Fink (15, 16) wurde der Versuch ohne Vitamin E-Zusatz durchgeführt. Die Ergebnisse sind in Tabelle 6 zusammengefaßt.

Tabelle 6

Einfluß der Proteinqualität von hitzegetrocknetem Fleisch bei Vitamin E-Mangel auf die Gewichtszunahmen wachsender Ratten (Versuch 5)

<u>Gruppe</u>	<u>g Zunahme/Tier in 28 Tg. (relativ)</u>	<u>Todesfälle</u>
Fleisch getrocknet	124 (100)	0
Fl.+Glukosamin getr.	68 (55)	4

Die Ratten der Versuchsgruppe "Fleisch getrocknet" bei gleichzeitiger Vitamin E-armer Ernährung zeigten etwas geringere Zunahmen als die Tiere in Versuch 2 und 3 (dasselbe Futter mit zusätzlich 40 mg Vitamin E pro kg). Todesfälle traten nicht auf. Im Gegensatz dazu war bei der Gruppe "Fleisch mit Glukosamin getrocknet" die relative Gewichtsdepression stärker als bei den vorhergehenden Versuchen. Von 30 Ratten starben 3 in der 4. und eine in der 5. Woche (Versuchsdauer 6 Wochen). Damit waren bei den bisher durchgeführten Versuchen erstmals Todesfälle bei Ratten aufgetreten, die hitzebeschädigtes Muskelprotein erhalten hatten.

Die Untersuchungen zum Cystingehalt der Proteinchargen und die histologischen Untersuchungen auf pathologische Leberveränderungen sind noch nicht abgeschlossen. Die Untersuchungen zum Problem der Proteinqualität bei gleichzeitigem Vitamin E-Mangel werden weitergeführt.

Zusammenfassung

In fünf Fütterungsversuchen wurde der Einfluß verschiedener Zusätze zu schierem Fleisch vor und nach dessen Hitzebehandlung auf die Gewichtszunahmen wachsender Ratten untersucht.

1. Durch Zulagen von Sehnenprotein bis zu 25 % am Gesamtprotein zu einem Futter mit 13 % Muskelprotein wurden die Gewichtszunahmen noch etwas verbessert. Zulagen von Sehnenprotein in Höhe von 10 % (etwa 30 % des Gesamtproteins) zu einem Futter mit 18 % Muskelprotein und 2 % Getreideprotein bewirkten Gewichtsdepression.
2. Ganzkörperanalysen von insgesamt 100 Ratten ließen keine Beeinflussung des Bindegewebsansatzes durch hohe Kollagenfütterung erkennen.
3. Eine Erhitzung von Muskelfleisch zusammen mit Sehnen beeinträchtigte die Proteinqualität der Mischung nicht. Wachsende Ratten entwickelten sich mit diesem Futter ebensogut wie mit Rationen aus getrocknetem Fleischmehl und getrockneten Sehnen.
4. Erhitzen von Muskelprotein zusammen mit Glukosamin oder Glukose führte zu hochgradiger, mit der Zuckerkonzentration und Erhitzungsintensität zunehmender Proteinschädigung. Dabei erwiesen sich die mit Glukose getrockneten Chargen als stärker hitzgeschädigt. Zwischen dem Gehalt an verfügbarem Lysin und der Entwicklung wachsender Ratten bestand eine gute Übereinstimmung.
5. Caseinzulagen zu hitzgeschädigtem Protein konnten die Gewichtsdepressionen wieder ausgleichen. Es wird daher angenommen, daß die Minderzunahmen und die schlechtere Futtermittelverwertung auf einen Verlust an verfügbaren essentiellen Aminosäuren oder auf Aminosäurenimbilanzen in den geschädigten Proteinchargen zurückzuführen war. Lysinulagen konnten die Minderzunahmen nicht entscheidend verbessern.
6. Der Cystingehalt betrug bei dem zusammen mit Glukose getrockneten Muskelprotein nur noch ein Drittel des Ausgangsgehalts.
7. Todesfälle traten nur bei gleichzeitigem Vitamin E-Mangel auf.

Summary

Five feeding experiments were carried out in order to show the influence of various additives to lean meat, before and after heating, on the weight increase of growing rats.

1. Addition of tendon protein to a ration containing 13 % muscle protein (about 25 % in the total protein) shows small improvement of weight gains. Tendon protein in an amount of 10 % (about 30 % in the total protein) added to a ration containing 18 % muscle protein and 2 % cereal protein did cause a decrease in weight.
2. Analyses of the total carcass carried out on 100 rats did not show any influence on forming of connective tissue due to high amounts of collagen added to the feed.
3. Heating lean meat with tendons did not affect the protein quality of the mixture. Growing rats having been fed on this feed developed just as well as those fed on rations containing dried meatmeal and dried sinews.
4. Muscle protein while heated with glucosamine or glucose caused extreme protein damage that increased in correlation to sugar concentration and heat intensity. Lots dried with glucose showed still more increases damages due to heat. The content of available lysine is well corresponding to the development of growing rats.
5. Casein added to heat damaged protein was able to compensate decreases in weight. Therefore it is assumed that small weight gains and insufficient feed conversion are due to a loss of available essential amino acids or to amino acid imbalances of the damaged protein lots. By adding lysine the low weight gains could not be improved in a decisive way.
6. The cystine content amounted to only one third of the initial content in the muscle protein dried in combination with glucosamine.
7. Cases of death did only occur when there was a lack of Vitamin E at the same time.

Literaturverzeichnis

1. Antonacopoulos, N.: Vorschläge zur quantitativen Bestimmung des Bindegewebes in Fleisch und seinen Zubereitungen. Diss. phil. München 1957.
2. Arbeitskreis für Proteinbewertung der Gesellschaft für Ernährungsphysiologie der Haustiere: Vorschriften zur Proteinbewertung in Versuchen an wachsenden Ratten. Z. Tierer. Futtermittelkde., 19 (1964), 257
3. Brüggemann, J., L. Kotter, K. Drepper, O. Prändel, B. Franke und Biruta Rolle: Ernährungsphysiologische Bewertung des Kollagens. Ein Beitrag zur Beurteilung des Kollagens in Fleisch- und Wurstwaren. Fleischwirtschaft 44 (1964), 20
4. Carpenter, K. J.: The estimation of the available lysine in animal-protein foods. Biochem. J. 77 (1960), 604
5. Erbersdobler, H. und H. Zucker: Zur Bestimmung von verfügbarem Lysin in Futtermitteln mit Dinitrofluorbenzol. Z. Tierer. Futtermittelkde., 19 (1964), 189
6. Erbersdobler, H.: Aminosäurenmuster und Proteinqualität von Tierkörpermehlen und Fischmehlen. Z. Tierer. Futtermittelkde. im Druck (Vortragsreferat)
7. Erbersdobler, H. und H. Zucker: Untersuchungen zum Gehalt an Lysin und verfügbarem Lysin in Trockenmagermilch. Milchwissenschaft (1966), im Druck
8. Evans, R. J. und H. A. Butts: Heat Inaktivierung von Lysin in Soymeal. J. biol. Chem. 175 (1948), 15
9. Evans, R. J. und H. A. Butts: Heat Inaktivierung von Methionin in Sojabohnen. J. biol. Chem. 178 (1949), 543
10. Ferrando, R., N. Henry und M. Vaiman: Etudes sur la valeur alimentaire des farines de viande (2^e Note). Rec. Med. Vet. Tome CXXXVIII (Juni 1962)
11. Ferrando, R., A. Dangoumau und N. Henry: Etudes sur la valeur alimentaire des farines de viande (3^e Note). Rec. Med. Vet. Tome CXXXVIII (September 1962)
12. Ferrando, R., N. Henry und Cl. Fourlon: Etudes sur les farines de viande (4^e Note). Supplémentation des tendons avec des acides aminés de synthèse. Rec. Med. Vet. Tome CXXXIX (Octobre 1963)

13. Ferrando, R., N. Henry und A. Parodi: Effects biologiques du chauffage de la viande en presence d'hexosamine (D-glucosamine). C. R. Acad. Sc. Paris, 259 (1964), 1237.
14. Ferrando, R. und N. Henry: Effects biologiques du chauffage de la viande en presence d'hexosamine (D-glucosamine). C. R. Acad. Sc. Paris, 257 (1963), 1161
15. Fink, H.: Selengehalt und Verhalten von Magermilchpulvern hinsichtlich der alimentären Lebernekrosen der Ratte. Naturwiss., 47 (1960), 499
16. Fink, H. und I. Schlie: Die experimentelle alimentäre Lebernekrose als empfindlicher Indikator bei thermischer Belastung der Milch über die Magermilchtrocknung. Die Nahrung, 7 (1963), 277
17. Görnhardt, L.: Die nichtenzymatische Bräunung von Lebensmitteln. II. Der Reaktionsablauf und seine Auswirkungen. Fette Seifen Anstrichm., 57 (1955), 429
18. Henderickx, H.: Biologische Wertigkeit und "chemical score". Z. Ern.wissenschaft, 3 (1963), 158
19. Hodge, J. E.: Dehydrated Foods. Chemistry of browning reaction in model systems. J. Agric. Food Chem., 1 (1953), 928
20. Jakobsen, P. E.: Die Bewertung der Proteinstoffe in Futtermitteln. Vortrag anlässlich des IV. Europäischen Kongresses der Futtermittelindustrie Berlin 1964
21. Lang, K.: Veränderung der Nahrung durch industrielle und haushaltmäßige Verarbeitung. Wissenschaftl. Veröffentlichungen der Deutschen Gesellschaft für Ernährung, Band 5. Dr. Dietrich Steinkopff Verl. Darmstadt (1960)
22. Lea, C. H. und R. S. Hannan: Reaction between Glucose and the terminal aminogroup of Lysine. Nature, 168 (1951), 744
23. Miller, E. L., A. W. Hartley und D. C. Thomas: "Availability of sulfur amino acids in protein foods". 4. Effect of heat treatment upon the total amino acid content of cod muscle. Brit. J. Nutr., 19 (1965), 565

24. Miller, E. L., K. J. Carpenter und C. K. Milner: "Availability of sulfur amino acids in protein foods". 3. Chemical and nutritional changes in heated cod muscle. Brit. J. Nutr., 19 (1965), 547
25. Miller, E. L., K. J. Carpenter, Clare, B. Morgan und A. W. Boyne: "Availability of sulfur amino acids in protein foods". 2. Assessment of available methionine by chick and mikrobiological assays. Brit. J. Nutr., 19 (1965), 249
26. Moore, S.: On the determination of cystine as cysteic acid. J. biolog. Chem., 238 (1963), 235
27. Rao, M. N., H. Sreenivas, M. Swaminathan, K. J. Carpenter und C. B. Morgan: The nutritionally available Lysine and Methionine of heated Casein-Glucose Mixture. J. Sci. Food Agric. 14 (1963), 544
28. Schwarz, K.: Factor 3, Selenium and Vitamin E. Nutrition Reviews, 18 (1960), 193
29. Spackmann, H., W. H. Stein und S. Moore: Automatic Recording Apparatus for Use in the Chromatography of Amino Acids. Analytical Chemistry, 30 (1958), 1190
30. Waterworth, D.: The nutritive quality and available amino acid composition of some animal protein concentrates. Brit. J. Nutr., 18 (1964), 503