

D 8

Beurteilung von Fleischerzeugnissen durch chemische Bestimmung einzelner Aminosäuren.

Von Dr. Klement M ö h l e r u. Werner V o l l e y  
Deutsche Forschungsanstalt für Lebensmittelchemie, München.

Zusammenfassung:

Nach einem vereinfachten Verfahren lässt sich von Fleisch und Fleischerzeugnissen ein Säurehydrolysat gewinnen, das ohne besondere Aufarbeitung einerseits in bekannter Weise zur chemischen Hydroxyprolinbestimmung, andererseits zur enzymatischen Glutaminsäurebestimmung und zur Feststellung des Gesamt-N im Mikrokjeldahlverfahren verwendet werden kann.

Summary:

Meat or meat products are hydrolysed in a simple matter with sulfuric acid. The solution is only neutralised and used in the known way for chemical assay of hydroxyprolin, furthermore for the enzymic analysis of glutamic acid and the chemical determination of nitrogen according to the micro-kjeldahl-method.

Für die Beurteilung der Genussqualität von Fleischwaren ist eine grosse Zahl verschiedener Faktoren von Bedeutung, die in ihrer Gesamtheit durch die Sinnenprüfung subjektiv erfasst werden. Mit objektiven Prüfverfahren können demgegenüber nur einzelne Merkmale geprüft oder einige wenige Daten kombiniert werden, sie können im wesentlichen nur zur Objektivierung oder Ergänzung der Sinnenprüfung herangezogen werden.

Eine hervorragende Stelle unter den objektiven Prüfmethoden nimmt die chemische Bestimmung des Hydroxyprolins ein. Der Hydroxyprolingehalt von Fleischerzeugnissen kann jedoch nur mit Hilfe eines empirischen Faktors unter Bezugnahme auf das Gesamtprotein zur Bewertung des Bindegewebsgehaltes herangezogen werden oder man prüft die Beziehung des Hydroxyprolins zum Gehalt an verschiedenen essentiellen Aminosäuren, vor allem zum Tryptophan <sup>1)</sup>. Zur Hydroxyprolinbestimmung wird das Protein sauer hydrolysiert und hierbei wird das Tryptophan zerstört. Sehr beständig dagegen ist die Glutaminsäure und es erschien lohnend, über eine Glutaminsäurebestimmung eine Korrelation zum Hydroxyprolingehalt herzustellen <sup>2)</sup>.

Im folgenden soll auf die Methode und auf die Ergebnisse kurz eingegangen werden.

Hydrolyse. Ein Arbeitskreis befasst sich in Deutschland mit der Frage, unter welchen Bedingungen eine optimale Proteinhydrolyse zu erzielen ist. Es wird ein Protein:Salzsäure-Verhältnis von 1 : 1000 - 1 : 10 000 und strikter Ausschluss von Luftsauerstoff gefordert. Für Untersuchungen in der Lebensmittelpraxis sind diese Forderungen nicht erfüllbar, da die Inhomogenität des Materials eine Mindesteinwaage von 2 g Substanz bedingt. Hydroxyprolin und Glutaminsäure sind jedoch auch in Gegenwart von Luftsauerstoff bei saurer Hydrolyse sehr beständig und es konnte bestätigt werden, dass auch bei lang dauernder Einwirkung praktisch keine Verluste der beiden Aminosäuren auftreten. Eine experimentelle Vereinfachung stellt die Anwendung von Schwefelsäure statt Salzsäure dar.

10 g homogenisiertes Untersuchungsmaterial werden in einem Kolben oder Becherglas mit 1,9 g ZinnII-chlorid versetzt und mit 100ml 30%iger (= etwa 6 n) Schwefelsäure verrührt, bis eine gleichmässige Mischung vorliegt. Das Gemisch wird bis zum Kochen erhitzt und dann bedeckt für 6 - 16 Stunden (z.B. über Nacht) bei 110°C in einen elektrischen Wärmeschrank gestellt. Nach dem Abkühlen wird mit Wasser auf ein bestimmtes Volumen gebracht und, falls erforderlich, filtriert.

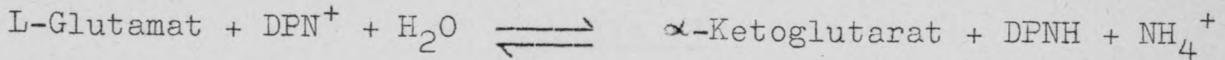
Bei der beschriebenen Hydrolyse treten trotz des ZinnII-chloridzusatzes gelegentlich Huminstoffe auf, die aus dem Sarkoplasma, nicht dagegen aus dem Bindegewebe entstehen. Der als Huminstoff gebundene Proteinanteil hat bisher in keinem Fall mehr als 1 % des Gesamtproteins betragen und muss wohl in Kauf genommen werden, wenn es nicht gelingt, diese Nebenreaktion zu unterbinden.

#### Hydroxyprolin und Gesamt-N.

Ein aliquoter Teil des Hydrolysates dient nach einer Modifikation der Methode von Neumann und Logan<sup>3)</sup> zur Bestimmung des Hydroxyprolins. Der Gesamt-N lässt sich mit einer Aufschlusszeit von 60 - 90 min nach der Mikro-Kjeldahl-Methode in einem weiteren aliquoten Teil bestimmen. Die Genauigkeit hängt nur vom Pipettierfehler ab.

### Gesamtglutaminsäure.

Die enzymatische Methode nach B e r n t und B e r g - m e y e r <sup>4)</sup> beruht auf der Reaktion:



Glutamatdehydrogenase dient als Katalysator. Die Reaktion verläuft bis  $p_{\text{H}} 9$  quantitativ nach rechts, wenn das gebildete  $\alpha$ -Ketogluarat mit Hydrazin abgefangen wird und der Gehalt der Probe an  $\text{NH}_4$ -Ionen möglichst gering ist. Diese Bedingung erfüllt das neutralisierte, von Zinnionen befreite Hydrolysat bei einer Endverdünnung von 1 g Substanz in 200 ml Lösung. Messgrösse ist die Extinktionsänderung bei 340 (oder 366) nm, die durch den Übergang  $\text{DPN} \longrightarrow \text{DPNH}$  bedingt ist. Fehlerbreite  $\pm 4 \%$ .

### Freie Glutaminsäure.

Ein Zusatz von Mononatriumglutamat bei Fleischerzeugnissen lässt sich ermitteln, wenn man das homogenisierte Erzeugnis ohne Hydrolyse mit Wasser aufkocht, die Suspension nach C a r r e z klärt und filtriert. Im Filtrat kann die Glutaminsäure unmittelbar, wie oben beschrieben, bestimmt werden. Die im Fleisch bereits vorhandene natürlich freie Glutaminsäure liegt in der Grössenordnung von 0,01 %, bezogen auf Gesamtmasse. Dieser Wert kann bei der Gesamtauswertung vernachlässigt werden, da andererseits das zugesetzte Glutamat zu 80 - 90 %, also nicht vollständig, wiedergefunden wird.

### Ergebnisse.

Die rein experimentellen Erfahrungen sind als gut zu bezeichnen. Eine erste Gegenüberstellung (Tabelle 1) von Ergebnissen lässt erkennen, dass bei einem geringen bis mittleren Kollagengehalt das Verhältnis Hydroxyprolin  $\cdot 100/\text{Glutaminsäure}$  <sup>den</sup> mit dem Konventionsfaktor 8 aus dem Hydroxyprolinegehalt (bezogen auf N  $\cdot 6,25$ ) berechneten Bindegewebegehalt, sehr nahe kommt. Es hat den Anschein, dass elastinreiche Bindegewebe, wie das Nackenband, auf diese Weise stärker berücksichtigt werden, als nach der Hydroxyprolinmethode allein. Zur statistischen Auswertung muss noch ein umfangreiches Probenmaterial gesammelt werden. Hierbei ist zu klären, ob sich die Auswertung auch auf Fleischerzeugnisse mit einem Gehalt an Getreidemehl oder Milchweiweiss anwenden lässt.

Tabelle 1

Beispiele für den Gehalt an Hydroxyprolin und Glutaminsäure in einigen Fleischproben.

Substanz, Durchschnittsproben	% Gehalt bezogen auf N.6,25			HP.100
	Hydroxy- prolin HP	Glutamin- säure	Bindege- webe = HPx8	Glutamin- säure
Schweinefleisch	0,86	11,2	6,9	7,7
Rindfleisch	1,7	14,0	13,6	12,2
Jungbullenfleisch	1,8	14,1	14,4	12,7
Kalbfleisch	0,9	8,2	7,2	11,0
Schwarte vom Schwein	8,2	10,7	65,7	76,5
Nackenband vom Rind	2,6	3,8	20,8	67,5

Literatur:

- 1) Vergl. z.B. Referat Z. Dvořák u. J. Vognarová, The relationship between the content of the connective tissue and the biological value of proteins in meat.  
11. Europäischer Fleischforscherkongress, Belgrad 1965.
- 2) Thema zur Dissertationsarbeit W. Volley, Techn. Hochschule, München.
- 3) Möhler, K. u. N. Antonacopoulos: Zeitschr. Lebensm. Unters. u. -Forschung 106, 425 (1957).
- 4) Bernt, E. u. H.U. Bergmeyer: Methoden der enzymatischen Analyse von H.U. Bergmeyer, 1. Aufl. 1962, Verlag Chemie Weinheim, W. Germany, S. 384.