

Zur direkten Bestimmung von Muskelprotein in Fleischerzeugnissen

Christine Herrmann, Hildegard Thoma und L. Kotter

Institut für Hygiene und Technologie der Lebensmittel tierischen Ursprungs,  
Universität München

Wertbestimmend ist in Fleischerzeugnissen das bindegewebsfreie Magerfleisch. Bei der Beurteilung von Fleischerzeugnissen interessiert deshalb vorrangig der Gehalt an Muskelprotein. Nachdem bisher kein Verfahren zur direkten Erfassung von Muskelprotein in Fleischerzeugnissen bekannt war, erfolgte dessen Bestimmung bisher ausschließlich indirekt, indem von den Gesamtstickstoffverbindungen differenziert erfaßte Bindegewebsproteine, Fremdeiweiße und fremde Nichtproteinstickstoffverbindungen abgezogen wurden. Der dafür notwendige Aufwand ist bekannt. Gehalte von Gesamtstickstoffverbindungen, die mittels Faktoren nur über Stickstoffwerte errechnet sind, geben allein und auch in Verbindung mit Bindegewebsproteinwerten keine ausreichende Auskunft.

Inzwischen konnten wir ein Verfahren zur direkten Muskelproteinbestimmung entwickeln, bei dem nach entsprechender Vorbehandlung des Materials (u.a. Lyophilisation und 60 Minuten langes Erhitzen bei 130° C) bei pH 9,0 (Einstellung mittels 0,1 n NaOH) Fremdeiweiße, Blutplasma, Kollagen und fremde Nichtproteinstickstoffverbindungen abgetrennt werden. Der Anteil an nichtgelöstem Muskelprotein wird direkt erfaßt und mittels des Konversionsfaktors  $\frac{100}{75}$  auf den Gesamt-Muskelproteinanteil im Fleischerzeugnis umgerechnet.

The Direct Determination of Muscle Protein in Meat Products

Christine Herrmann, Hildegard Thoma, and L. Kotter

Institute for Hygiene and Technology of Foods of Animal Origin,  
University of Munich

Determinant for the valuation of meat products is the content of lean meat free from connective tissue. That is why the content of muscle protein is of primary interest when evaluating meat products. Since a suitable method is not yet available for the direct determination of muscle protein in meat products this has been carried out solely indirectly, that is by subtracting from the total amount of nitrogenous compounds the separately determined amounts of connective tissue proteins, non-meat proteins, and foreign non-protein nitrogenous substances. The expenditures involved with this method are evident. The proportions of the total nitrogen compounds which have been calculated by means of a multiplier via the contents of nitrogen only would be of insufficient evidence neither isolated nor in connection with connective-tissue proteinous data.

In the meantime, we have succeeded in developing a method for the direct determination of muscle protein, by means of which after an adequate preparation of the material (e.g. lyophilisation and heat treatment at 130° C for 60 min.) and with pH 9.0 (standardized by means of 0.1 n NaOH) we could separate non-meat proteins, blood plasma, collagen, and foreign non-protein nitrogen compounds. The proportions of undissolved muscle protein will be determined directly and will be brought in relation to the total content of muscle protein in the meat product by means of the conventional factor  $\frac{100}{75}$ .

Pour la détermination directe de l'albumine musculaire contenue dans les viandes

Christine Herrmann, Hildegard Thoma et L. Kotter

Institut d'Hygiène et de Technologie des produits alimentaires  
d'origine animale, Université de Munich.

Ce qui est déterminant pour ce qui concerne la valeur des viandes, c'est la partie maigre ne contenant pas de tissu conjonctif. Lorsque l'on évalue les viandes, on s'intéresse donc, en premier lieu, à la teneur en albumine musculaire. Jusque-là, on ne connaissait aucun procédé permettant d'établir directement la teneur en albumine musculaire des viandes; de ce fait, cette détermination se faisait exclusivement de façon indirecte: on recherchait, de façon différenciée, les albumines du tissu conjonctif, les albumines étrangères et les composés azotés étrangers non albumineux et on les retranchait de l'ensemble des composés azotés. On sait le temps que cela prenait. Les teneurs de l'ensemble des composés azotés que l'on calcule au moyen de facteurs ne portant que sur des valeurs d'azote, ne donnent, seules et aussi en relation avec les valeurs d'albumine des tissus conjonctifs, aucune information suffisante. Entre-temps, nous avons mis au point un procédé destiné à déterminer directement la teneur en albumine musculaire; après traitement préalable du matériau (entre autres, lyophilisation et réchauffement à 130° C pendant 60 minutes), le potentiel Hydrogène étant de 9,0 (réglage au moyen de 0,1 n NaOH), on sépare les albumines étrangères, le plasma sanguin, les collagènes et les composés étrangers azotés non albumineux. La proportion d'albumine musculaire, qui n'est pas dissoute, est établie directement et, au moyen d'un rapport de convention  $\frac{100}{75}$ , il est possible de calculer la proportion totale d'albumine musculaire dans la viande.

Для непосредственного определения мышечного белка в мясных продуктах

Кристина Геррманн, Гильдегард Тома и Л. Коттер  
(Christine Herrmann, Hildegard Thoma und L. Kotter)

Институт гигиены и технологии пищевых продуктов животного происхождения, университет Мюнхена

Определяющей ценностью в мясных продуктах является свободное от соединительных тканей обезжиренное мясо. Поэтому, при оценке мясных продуктов особый интерес прежде всего представляет содержание мышечного белка. Поскольку метод непосредственной регистрации мышечного белка в мясных продуктах до сих пор был не известен, определение последнего осуществлялось косвенным путем, а именно: методом дифференцированного вычитания охваченных белков соединительных тканей, посторонних белков и посторонних безбелковых азотных соединений из общего наличия соединений азота. Необходимые для этого затраты известны. Содержания общего наличия азотных соединений, которые можно рассчитать с помощью факторов, применяя только азотные значения, ни отдельно, ни во взаимосвязи со значениями белков соединительной ткани не дают исчерпывающей информации.

За истекшее время для непосредственного определения мышечного белка мы могли разработать метод, который, после соответствующей предварительной обработки материала (в том числе лиофилизацией и 60-минутным прогревом при 130° C) при водородном показателе (pH) 9,0 (регулирование при помощи 0,1 n NaOH), позволяет определять посторонние белки, плазму крови, коллаген и посторонние безбелковые соединения азота. Регистрируемая непосредственно доля нерастворенного мышечного белка, при помощи традиционного фактора  $\frac{100}{75}$ , пересчитывается на общую долю мышечного белка в мясном продукте.

Aus dem Institut für Hygiene und Technologie der Lebensmittel tierischen Ursprungs, Universität München

Zur direkten Bestimmung von Muskelprotein in Fleischerzeugnissen

von

Christine Herrmann, Hildegard Thoma und L. Kotter

Wertbestimmend ist in Fleischerzeugnissen das bindegewebsfreie Magerfleisch. Bei der Beurteilung von Fleischerzeugnissen interessiert deshalb vorrangig der Gehalt an Muskelprotein. Nachdem bisher kein Verfahren zur direkten Erfassung von Muskelprotein in Fleischerzeugnissen bekannt war, erfolgte dessen Bestimmung bisher ausschließlich indirekt, indem von den Gesamtstickstoffverbindungen differenziert erfaßte Bindegewebsproteine, Fremdeproteine und fremde Nichtproteinstickstoffverbindungen abgezogen wurden. Der dafür notwendige Aufwand ist bekannt. Gehalte von Gesamtstickstoffverbindungen, die mittels Faktoren nur über Stickstoffwerte errechnet sind, geben allein und auch in Verbindung mit Bindegewebsproteinwerten keine ausreichende Auskunft.

Inzwischen konnten wir ein Verfahren zur direkten Muskelproteinbestimmung entwickeln, bei dem Bindegewebsprotein, Fremdeproteine und fremde Nichtproteinstickstoffverbindungen restlos abgetrennt und die Anteile an unlöslichem Muskelprotein direkt erfaßt werden.

Wir gehen dabei wie folgt vor:

1. Aufbereitung des Untersuchungsmaterials und Inlösungbringen des Kollagens:

1.1 Untersuchungsmaterial fein zerkleinern und gut durchmischen.

1.2 Rohprotein bestimmen (N · 6,25)<sup>+</sup>

- 2 -

stickstoffverbindungen völlig, Kollagen bis auf unbeachtlichen Rest (nach unseren Erfahrungen vom Gesamtkollagen maximal 4%) abgesondert. Außerdem wird dabei der unter diesen Bedingungen in Lösung gehende Anteil an fleischeigenen bindegewebsproteinfreien Stickstoffverbindungen (max. waren dies bisher 20%) ausgewaschen, weshalb wir für die Umrechnung auf den Gesamtanteil an Muskelprotein als Konventionsfaktor  $\frac{100}{75}$  verwenden.

4.1 Berechnung über Rohproteinanteile:

$$4.11 \text{ mg Rohprotein in 5 g Lyophilisat} = \frac{5 \times \% \text{ Rohprotein im Lyophilisat}_{(1.5)} \times 1000}{100}$$

$$4.12 \text{ mg nichtgelöstes Rohprotein in 5 g Lyophilisat} = \frac{\text{Gewicht des nicht gelösten Anteils in mg}_{(3.2)} \times \% \text{ Rohprotein im nicht-gelösten Anteil}_{(3.3)}}{100}$$

$$4.13 \text{ Unlösliches Muskelprotein in der Probe in \%} = \frac{\% \text{ Rohprotein in der Probe}_{(1.2)} \times \text{mg nichtgelöstes Rohprotein in 5 g Lyophilisat}_{(4.12)}}{\text{mg Rohprotein in 5 g Lyophilisat}_{(4.11)}}$$

$$4.14 \text{ Muskelprotein in der Probe in \%} = \frac{\text{unlösliches Muskelprotein in der Probe in \%}_{(4.13)} \times 100}{75}$$

4.2 Berechnung über Gewichte:

4.21 Gewicht des nichtgelösten Anteils aus der Extraktionseinwaage

$$G_5 = \frac{G_2 \times G_4}{G_3} \quad (\text{beachte Gewichte in 1.3, 1.6 und 3.2!})$$

1.3 100 g auf einem runden Blech (Ø 20 cm) einwiegen (G<sub>1</sub>), austreichen, bei -45° C einfrieren, dann lyophilisieren, anschließend in der Soxhlet-Apparatur entfetten und schließlich erneut wiegen (G<sub>2</sub>).

1.4 Entfettetes Lyophilisat im Mörser weiter homogenisieren.

1.5 Vom homogenisierten Lyophilisat Rohprotein (N · 6,25) bestimmen<sup>+</sup>

1.6 5 g homogenisiertes Lyophilisat einwiegen (G<sub>3</sub>), mit 100 ml Aqua dest. versetzen, 5 min auf dem Magnetrührer bei Zimmertemperatur bewegen (rehydrieren) und zur Verleimung und zum Inlösungbringen des Kollagens (im Autoklaven oder Labor-Dampftopf) 60 min bei 130° C halten.

2. Inlösungbringen der Fremdeproteine:

Erhitzten Ansatz (5 g in 100 ml) mit 0,1 n NaOH auf pH 9,0 einstellen und (mit einem Magnetrührer oder Schüttelapparat) 3 Std. bei Zimmertemperatur unter ständiger pH-Kontrolle (pH 9) bewegen.

3. Absonderung der in Lösung gegangenen Stickstoffverbindungen und Erfassung des nicht in Lösung gegangenen Muskelproteins:

3.1 Ansatz durch ein Filter (Schleicher & Schüll Nr. 520 b) geben und Filtrerrückstand mehrmals (mindestens dreimal) mit Aqua dest. waschen bis abtropfendes Filtrat wasserklar.

3.2 Filtrerrückstand mit Filter lyophilisieren oder auf andere Weise bis zur Gewichtskonstanz trocknen und wiegen (G<sub>4</sub>).

3.3 Vom Filtrerrückstand Rohprotein (N · 6,25) bestimmen.<sup>+</sup>

4. Berechnung des Muskelproteinanteils in der Probe:

Bei Behandlung nach 1.6 wird kollagenes Bindegewebe verleimt und Kollagen praktisch völlig in Lösung gebracht. Bei Behandlung nach 2. wird gesamtes Fremdeprotein in Lösung gebracht. Bei Behandlung nach 3.1 werden Fremdeproteine, Blutplasmaeiweiß und fremde Nichtprotein-

- 3 -

4.22 Unlösliches Muskelprotein in der Probe in \% =

$$= \frac{G_5 \times 100}{G_1} \quad (\text{beachte Gewichte in 1.3 und 4.21!})$$

4.23 Muskelprotein in der Probe in \% =

$$= \frac{\text{unlösliches Muskelprotein in der Probe in \%}_{(4.22)} \times 100}{75}$$

Erst bei Gefriertrocknung (1.3) war die restlose Extraktion der Fremdeproteine gesichert. (Bei der Trocknung mittels Lyophilisation ist der Phasenübergang flüssig - gasförmig durch die Phasenübergänge flüssig - fest (Gefrieren) und fest - gasförmig (Sublimation oder Gefriertrocknung im engeren Sinne) ersetzt.) Wir erreichten durch diese Art der Aufbereitung (1.3, 1.4) auch die weitestgehende Homogenität.

Die Temperatur von 130° C ist notwendig, weil die Löslichkeit des Muskelproteins bei steigendem Temperatureinfluß abnimmt und erst bei 130° C Unterschiede in der vorausgegangenen Hitzebehandlung neutralisiert sind. - Bei den Chargen mit Fremdeproteinzusätzen, hohen Gehalten an Kochsalz oder Zucker war außerdem bei Temperaturen um nur 100° C gegenüber Kontrollchargen eine Zunahme der Löslichkeit des Muskelproteins zu beobachten, was offenbar darauf beruht, daß durch diese Zusätze der lösliche Raum eingeengt und demzufolge dessen Ionenstärke erhöht wird. Nach bisherigen Erfahrungen sind derartige Einflüsse erst bei Einwirkung von 130° C für 60 min unbeachtlich. - Schließlich wird bei dieser Vorbehand-

<sup>+</sup> Auf Rohproteinbestimmungen und Berechnungen nach 4.1 kann im Routinebetrieb bei Brüh- und Rohwürsten später u.U. verzichtet werden, wenn die Rohproteingehalte des unlöslichen Anteils hierbei weiterhin praktisch konstant sind; es genügen dann Berechnungen nach 4.2. Bei Fleischzubereitungen mit unbekanntem Rohfaseranteilen scheinen Rohproteinbestimmungen unerlässlich zu sein.

- 5 -

- 4 -

lung des Materials auch das Kollagen sicher verleimt und gelöst.

Elastin kann i. d. R. (analog zur Bindegewebeweißbestimmung über die Hydroxyprolinmethode) vernachlässigt werden. Stichprobenweise kann jedoch dann, wenn Verdacht auf ungewöhnlich hohe Elastinanteile besteht, mit 0,1 n Salzsäure fibrilläres Muskeleiweiß extrahiert und der Rückstand als Elastin gravimetrisch erfaßt werden. Ob auf diese Weise auch Rohfaser respektiert werden kann, muß noch geprüft werden.

Das Verhalten von Innereiweiß bei der Extraktion studieren wir z. Z. ebenfalls.

Das beschriebene Verfahren geht auf unsere nun schon 10 Jahre währenden Bemühungen zurück. Die damit bisher erreichten Ergebnisse zeigten gute Übereinstimmung mit den indirekt (chemisch sowie serologisch) ermittelten Muskeleiweißwerten. Bei Differenzen zwischen indirekt und direkt ermittelten Werten, d. h. relativ hohen Muskeleiweißwerten bei der indirekten Bestimmung, konnten wir von einer Ausnahme abgesehen später jeweils doch noch den Zusatz irgendeines Fremdeiweißes beweisen. In einem Fall steht die Abklärung aus; wir vermuten Zusatz von Hefeeiweiß, das wir serologisch bisher leider noch nicht erfassen können.

Im übrigen wurden uns von einem befreundeten fleischtechnologischen Labor mehrere Chargen speziell hergestellter Brühwürste überlassen. Teile eines einheitlichen Brühwurstbräts hatten dabei Zusätze erhalten, die in der folgenden Tabelle vermerkt sind, uns vor Abschluß der direkten Muskeleiweißbestimmungen jedoch nicht bekannt waren.

- 6 -

#### Literatur

- DeHoog, P., S. van den Reek und F. Brouwer:  
Nachweis und Bestimmung von aufgeschlossenem Milcheiweiß und Soja-  
protein in Fleischerzeugnissen.  
Fleischwirtschaft 50 (1970), 1663;
- Kotter, L., G. Pfeiffer und E. Salamon:  
Herstellung und Beurteilung von Gulaschkonserven.  
Fleischwirtschaft 46 (1966), 395;
- Kotter, L., G. Krauße und G. Pfeiffer:  
Der Fleischanteil als entscheidendes Kriterium für die Beurteilung von  
Fleischerzeugnissen.  
Fleischwirtschaft 49 (1969), 1465;
- Krauße, G., G. Pfeiffer und H. Baas:  
Zur Bestimmung des Muskelfleischanteils in Fleischgemengen mittels  
des Auskochverfahrens.  
Arch. Lebensmittelhyg. 20 (1969), 190;
- Langner, H. J.:  
Vergleichende Untersuchungen nach dem Auskochverfahren durch Kochen  
in Wasser und dem Verfahren mit Weinsäure.  
19. Fortbildungslehrgang des Senators für Arbeit, Gesundheit und Soziales  
für in Veterinäruntersuchungsämtern amtlich tätige Tierärzte vom  
11. - 13.12.1968 in Berlin;
- Langner, H. J.:  
Zur Analytik und Beurteilung von Fleischprodukten nach dem Muskel-  
eiweißgehalt mit Hilfe eines Schnellverfahrens (Phosphatpuffermethode).  
Fleischwirtschaft 50 (1970), 1391;
- Pfeiffer, G., und G. Krauße:  
Zur Aussagekraft des Auskochverfahrens - Grenzwertempfehlung für  
Corned beef.  
Arch. Lebensmittelhyg. 20 (1969), 250;
- Ristow, R., S. JaRhie und H. Bartels:  
Analytische Bewertung von Deutschem Corned beef.  
Fleischwirtschaft 53 (1973), 849 u. 54 (1974), 221.

Zusätze	Rohprotein (N · 6,25) in % <sup>+</sup>	berechnetes Soll an Muskeleiweiß in % <sup>+</sup>	über direkte Be- stimmung ermittel- tes Muskeleiweiß in %
Kontrolle <sup>+</sup> )	10,3	8,0 <sup>+</sup> )	8,0
2 % Sojaweiß	12,4	7,8	7,9
2 % Trocken- blutplasma	11,9	7,8	7,7
2 % Molkeiweiß	11,3	7,8	7,8
2 % Kaseinat	12,3	7,8	7,8
4 % Eiklar	10,7	7,7	7,6
2 % Gluten	12,6	7,8	7,8
2 % Stärke	10,2	7,8	7,9
5 % Fett	10,1	7,6	7,8
5 % Schwartenbrei	10,9	7,6	7,7
5 % Wasser	9,9	7,6	7,8

+ ) Das ohne Zusätze hergestellte, geschüttete Brühwurstbrät hatte einen Muskeleiweißgehalt (N · 6,25 - Hydroxyprolin · 8) von 8,0 %. Durch die verschiedenen Zusätze wurde ein Teil des Muskeleiweißes verdrängt. Die unterschiedlichen Rohproteingehalte bei den Chargen mit Zusätzen an Fremdeiweiß sind bevorzugt mit unterschiedlichen Wassergehalten in den Eiweißpräparaten zu erklären.

In der zweiten Zahlenreihe sind die Werte für das Muskeleiweiß ausgewiesen, die bei der Kontrolle chemisch ermittelt (N · 6,25 - Hydroxyprolin · 8), bei den übrigen Chargen aus der Verdrängung durch Zusätze berechnet wurden. Zahlenreihe 3 enthält die direkt ermittelten Werte. Die sehr gute Übereinstimmung dieser Werte mit den Soll-Werten resultiert auch aus dem einheitlichen Grundbrät.

In Kürze wird mit verschiedenen Forschungsinstituten und amtlichen Untersuchungsämtern ein Ringversuch durchgeführt, über den zu gegebener Zeit berichtet wird.

- 7 -