

Charakterisierung des Proteinbandenmusters von Rindfleischpreßsaft nach der elektrophoretischen Auftrennung auf Polyacrylamidgelen unter besonderer Berücksichtigung der Bindegewebsalbuminbande.

R. EBERMANN und C. JIRESCH

Universität für Bodenkultur Wien, Austria

Zusammenfassung: Aus dem Proteinbandenmuster des Rindfleischpreßsaftes wurden die fünf intensivsten Bandenproteine näher charakterisiert. Das Bindegewebsalbumin, ein dem, in der Aminosäurezusammensetzung, dem Serumalbumin ähnliches, aber elektrophoretisch von diesem verschiedenes Protein, kommt immer mit Bindegewebe zusammen vor. Bei der elektrophoretischen Auftrennung auf 15 %-igem Gel wandert es langsamer als das Myoglobin, auf 10 %-igem Gel aber schneller als dieses - bei gleichem pH-Wert. Es ist hauptverantwortlich für den immunologischen Nachweis und kann unter gewissen Einschränkungen auch zur Bindegewebsbestimmung in Fleisch herangezogen werden. Bei den anderen Banden handelt es sich um Myoglobin, Kreatinkinase, Phosphoglukomutase und Glukose-6-phosphatdehydrogenase.

Material und Methodik:

Probenmaterial: Die Fleischproben stammen von verschiedenen Produzenten. Das Fleisch wurde in Stücke geschnitten und entweder mit einer Handpresse ausgepreßt oder mit einer Kühlzentrifuge zentrifugiert. Der Preßsaft kann dann ohne weitere Behandlung elektrophoretisch analysiert werden.

Die Wurstproben wurden uns von der Lebensmittelversuchsanstalt in Wien 19, Blaasstraße freundlicherweise zur Verfügung gestellt.

Polyacrylamidgel-Elektrophorese: Es wurde eine Vertikal-Elektrophorese-Apparatur nach RAYMOND (1) verwendet, die an unserem Institut von EBERMANN und BODENSEHER (2) modifiziert gebaut wurde.

Es wurde mit 10 und 15 %-igen Gellösungen gearbeitet (100 bzw. 150 g Acrylamid + 3,3 bzw. 5 g BIS + 45,6 g TRIS + 40 ml 1 M Zitronensäure versetzt und auf 1 L aufgefüllt, gerührt und filtriert; pH = 8,9)

Zur Gelpolymerisation werden zu je 10 ml obiger Lösung 0,2 ml 1,4 %-ige Ammoniumpersulfatlösung und 0,05 ml TEMED zugesetzt.

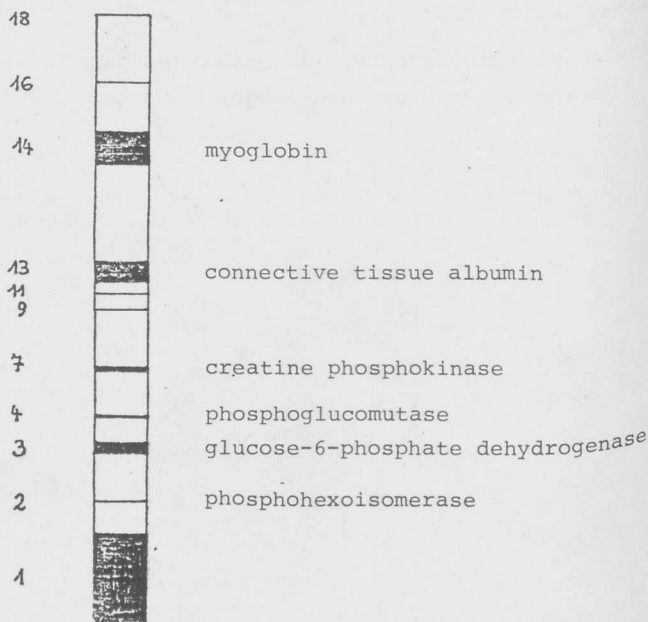
Der Elektrodenpuffer bestand aus 14,4 g Glycin und 3 g TRIS/ 2 Liter; pH = 7,8.

Färbemethoden am Gel: Proteine wurden mit 1%-iger Amido-Schwarz 10B gefärbt. Die eisenhaltigen Proteine wurden nach ORNSTEIN (3) und die Enzyme nach SCOPES (4) und nach HARRISON (5) gefärbt.

Die gefärbten Gele wurden mit einem Spektralphotometer PMQ II (Zeiss) an der Lebensmittelversuchsanstalt Blaasstraße ausgemessen.

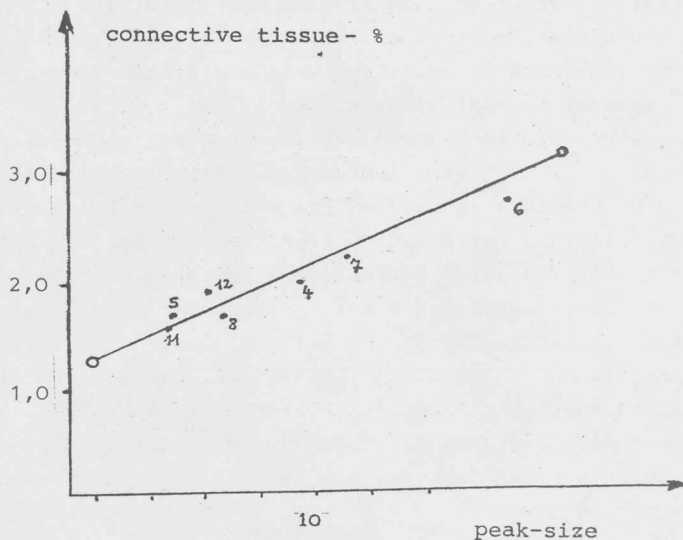
Ergebnisse:

1. Charakterisierung der Banden (6):



2. Die Bindegewebsalbuminbande:

Das Bindegewebsalbumin ist ein Protein, das aus bindegewebsreichem Material, Fettgewebe, Haut, Knorpel u.ä. durch Pufferlösung extrahiert werden kann. Es ist der Aminosäurezusammensetzung nach ähnlich dem Serumalbumin; dasselbe gilt auch für seine immunologischen Eigenschaften, sodaß es leicht mit Serumalbumin verwechselt werden kann (7). Bindegewebsalbumine kommen auch in anderen Haustierarten vor (8). Bei der elektrophoretischen Auftrennung zeigt das Bindegewebsalbumin Inversion der Wanderungsgeschwindigkeit gegenüber dem Myoglobin, d.h. es wandert in 10 %-igem Gel rascher anodisch als das Myoglobin. Die Wanderungsgeschwindigkeit ist bei pH 9 gleich dem Serumalbumin, bei pH 7,8 - 8 aber deutlich verschieden (9). Die Menge des in einer Fleischprobe vorkommenden Bindegewebsalbumin ist unter gewissen Einschränkungen proportional ihrem nach der Hydroxyprolinmethode bestimmten Bindegewebsgehalt (6).



Eine Übereinstimmung beider Methoden ist am besten gewährleistet bei mittleren Bindegewebsgehalten zwischen 1,5 und 3,6 % Bindegewebe, bestimmt nach der Hydroxyprolinmethode. Außerhalb dieser Grenzen divergieren die nach den beiden Methoden erhaltenen Werte. Dasselbe gilt auch für Proben mit einem Fettgehalt von über 25 %. Um die genauen Ursachen von Übereinstimmung und Nicht-Übereinstimmung angeben zu können, müßten weitere experimentelle Befunde über das Verhältnis Bindegewebsalbumin zu Bindegewebe verschiedener Gewebsarten vorliegen, bzw. über die Konstanz des Hydroxyprolingehaltes in verschiedenen Bindegewebsarten. Ein großer Vorteil der elektrophoretischen Methode wäre der, daß in einem Arbeitsgang der elektrophoretischen Auftrennung gleich mehrere Ergebnisse der Fleischuntersuchung erhalten werden können; zB: Prüfung auf Fremdeiweiß und die Bestimmung des Bindegewebsgehaltes.

3. Immunologische Eigenschaften des Bindegewebsalbumin:

Die Isolierung der Bindegewebsalbuminbanden bei Pferd und Schaf hat gezeigt (10), daß die Bindegewebsalbuminbande Hauptträger der immunologischen Reaktivität ist. Wird der Gehalt an Bindegewebsalbumin verringert, zB: durch thermische Denaturierung, so wird auch immer eine verminderte Reaktion im Doppeldiffusionstest gefunden.

Literatur:

- (1) RAYMOND, S.: Clinical Chem. 8, 455 (1962)
- (2) EBERMANN, R. und BODENSEHER, H.: Experientia 24, 523 (1968)
- (3) ORNSTEIN, L.: Enzyme analysis, C 8, Canalco 1963
- (4) SCOPES, R.K.: Biochem. J. 107, 139 (1968)
- (5) HARRISON, R.A.P.: Anal. Biochem. 61, 500 (1974)
- (6) JIRESCH, C.: Dissertation, Universität für Bodenkultur 1980
- (7) ADELMANN, B. et al.: Biochem. Z. 346, 282 (1966)
- (8) EBERMANN, R. und BARNA, J.: Z. Lebensmittel-Unters. u. Forsch. 148, 341 (1972)
- (9) GALINOWSKY, B.: Diplomarbeit, Universität für Bodenkultur 1972.
- (10) INFÜHR, E.: Diplomarbeit, Universität für Bodenkultur 1977