

Aminosav-származékok keletkezése az élelmiszerfehérjék lúgos kezelése során*

DWORSCHÁK ERNŐ** ÉS ÖRSI FERENC***

Érkezett: 1978. június 22.

Az új fehérje forrásokból (pl. szója, élesztő, alga) történő fehérjegyártás feltárási, tisztítási és koncentrálnálási műveleteket igényel. Ezek közül nagyon gyakran alkalmaznak lúgos kezelést, amely legtöbbször 0,1–0,5 n nátronlúggal 30–100 °C-on történik. Lúgos kezelést használnak élesztő- és baktérium biomasszában a nukleinsavak eltávolítására (1), aflatoxin (2), enziminhibitorok tönkretételére (3), szójából, ill. cereáliákból fehérjekoncentrátumok és izolátumok (4, 5) előállítására, kedvező érzékszervi, ill. emulgeáló és szolubilizáló tulajdonságokkal (6) rendelkező fehérjék készítésére. Texturált, tehát a hagyományoshoz hasonló fehérjekészítmények gyártásakor ugyancsak alkalmaznak lúgos kezelést (7). Megjegyezzük, hogy a közép-amerikai kultúrákban már több ezer év óta, és még ma is alkalmaznak mészszel végzett lúgos feltárást kukoricaliszt könnyebben emészthető terméké (tortilla) való átalakítására (8).

A lúgos kezelés hatására a fehérjében olyan változások mennek végbe, amelyek a táplálkozási értéket csökkentik. Egyes aminosavak, pl. a treonin, cisztin és szerin glicinné és alaninná, az arginin ornitinné, illetve más bomlástermékeké alakulhatnak át (9). Bekövetkezhet a fehérjékben kötött aminosavak racemizálódása, azaz L-módosult részlegesen átalakul D-izomerré (3). Az esszenciális aminosavak D-módosulatai a metionin és fenilalanin kivételével nem alakulnak át a megfelelő L-formává, tehát a szervezet fehérjéibe esszenciális aminosavként nem épülnek be.

A fehérjék lúgos kezelésénél más kémiai reakciók is lezajlódhatnak, amelyek egy részét már régebben, a gyaipjú lúgos áztatásával kapcsolatban felderítették (10). Lúg hatására a fehérjékben levő cisztin-, szerin- és treoninegységekből béta-eliminációval dehidroalanin keletkezik (1. ábra). A dehidroalanin nagy reakciókészsége miatt egyesülni képes a fehérjékben levő egyes aminosavakkal. Így a lizinnel reagálva lizinoalanin [a továbbiakban LAL (11)], ornitinnel ornitoalanin (12), cisztinnel lantionin, ammóniával bétaaminoalanin, hisztidinnel és triptofánnal pedig egyelőre még ismeretlen szerkezetű (4) aminosav-származékok keletkeznek (2. ábra).

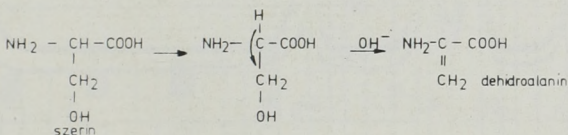
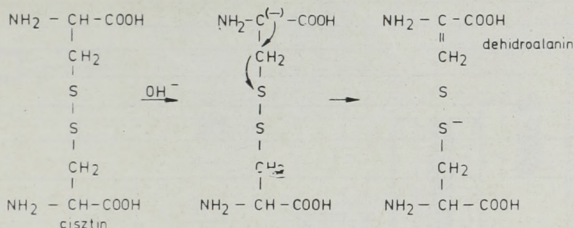
Az említett aminosav-származékok közül eddig elsősorban a LAL keltett érdeklődést, mert sikerült kapcsolatot találni lúgosan kezelt fehérje toxikus hatása és LAL tartalma között. Woodard lúgosan kezelt fehérjét (13, 14, 15), majd szintetizált LAL-t (16) etetett patkányokkal; már az utóbbinak az étrendre számított 25 ppm-nyi mennyisége a patkányok veséjében a sejtek és sejtmagvak megnagyobbo-

* Elhangzott 1978. május 25-én a 11. Élelmiszertudományi Konferencián (Szerk.)

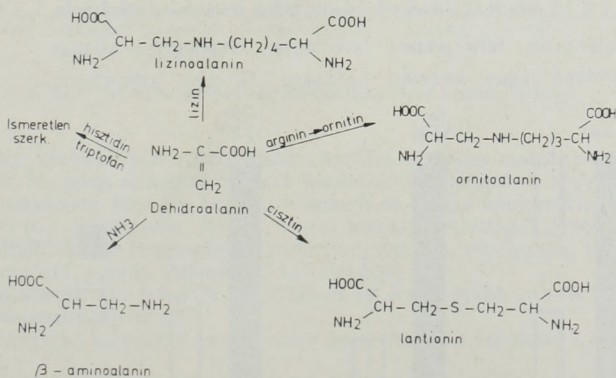
** Országos Élelmezés- és Táplálkozástudományi Intézet, Budapest

*** Budapest Műszaki Egyetem Biokémiai és Élelmiszertudományi Tanszék, Budapest

β - elimináció*



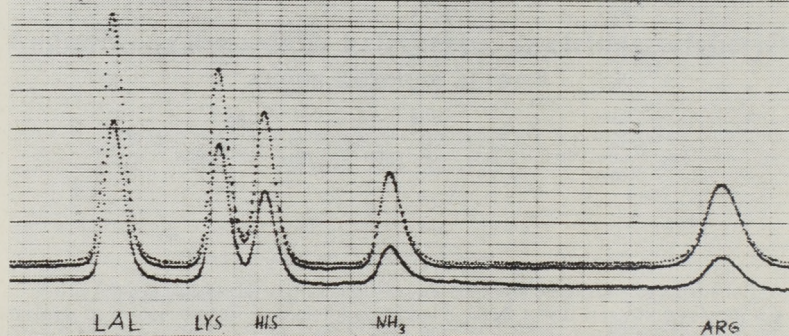
1. ábra: Dehidroalanin keletkezési cisztinból és szerinből béta-elimináció segítségével



2. ábra: Dehidroalaninból létrejövő aminosav-származékok

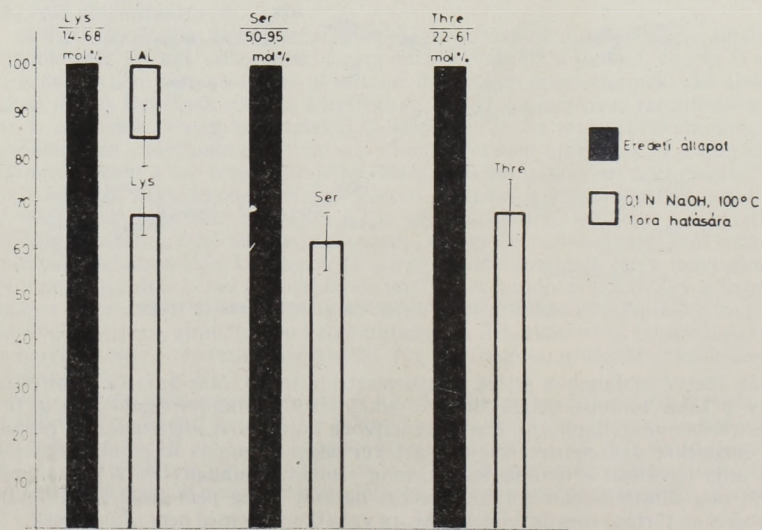
dását, illetve többmagvú sejtek keletkezését idézte elő. Más kutatók kimutatták, hogy a LAL toxikus hatása függ az alkalmazott patkánytörzstől (17). *de Groot* kísérleteiben megállapította, hogy a fehérjében kötött LAL, feltehetően a proteolitikus enzimekre való rezisztenciája miatt két nagyságrenddel nagyobb mennyiségben adja ugyanazt a toxikus hatást, mint szabad formában (18). A patkányokon kívül más állatfajokban a LAL toxikus hatását eddig nem lehetett kimutatni. Embereken történő megfigyelések LAL-ra vonatkozólag még nem ismeretesek.

A LAL-kutatást újabb megvilágításba helyezte *Sternberg* eredményei (19), melyek szerint a LAL nem csupán lúg, hanem hőkezelés hatására is keletkezik a fehérjékben.

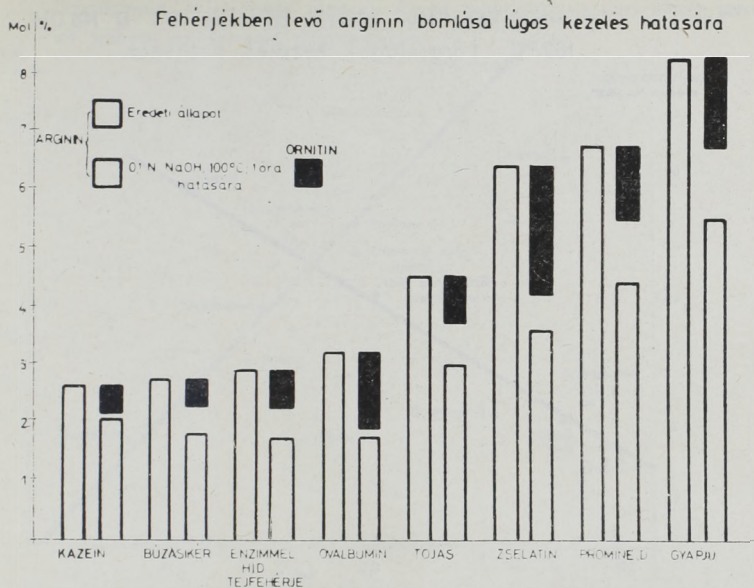


3. ábra: Lizinoalanin kromatogramja aminosav-analizátoron

Különböző fehérjékben levő egyes aminosavak átlagos bomlása lúgos kezelés hatására %-ban kifejezve



4. ábra: Különböző fehérjékben levő egyes aminosavak átlagos bomlása lúgos kezelés hatására százalékban kifejezve



5. ábra: Fehérjékben levő arginin bomlása lúgos kezelés hatására

Az eddigi közlemények a lúgos kezelés hatását általában csak egy-egy fehérjefajtára írták le. Jelen munkánkban azt kívántuk megvizsgálni, hogy különböző aminosav összetételű fehérjék hogyan viselkednek magas hőmérsékleten történő lúgos kezelés (0,1 n nátronlúg, 100 °C, 1 óra) hatására. A vizsgált fehérjefajták az alábbiak voltak: kazein, enzimmel hidrolizált tejfehérje, ovalbumin, tojásfehérje, zselatin, búzasíkér, gyapjú, promine-D szójafehérje.

1. Célul tűztük ki a felsorolt fehérjékben az érzékenyebb esszenciális aminosavak bomlásának felmérését.

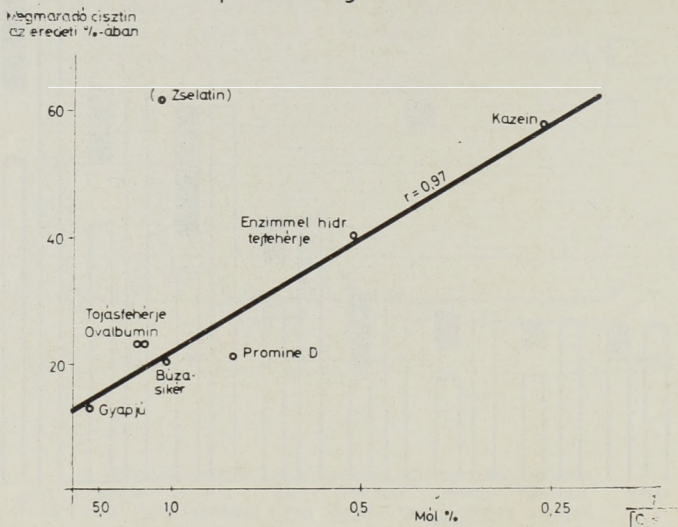
2. Összefüggést kerestünk az aminosav összetétel és a keletkező LAL mennyisége között.

3. Végül fel kívántuk mérni néhány, feldolgozáson átment fehérjetartalmú élelmiszer LAL is tartalmát.

Az aminosavak meghatározására az eddigiekben jól bevált réteg-, illetve aminosav-analizátoron történő ioncserés oszlopkromatográfiai eljárásokat alkalmaztunk. A LAL elválasztására egyrészt Sternberg és mtsai által (20) leírt kifejlesztő elegy mellett cellulózzréteg, másrészt aminosav analízátor bázisos aminosavakra alkalmazott rövid oszlopa és 5,3 pH-jú puffer bizonyult megfelelőnek. Az utóbbi elválasztást a 3. ábrán mutatjuk be.

A lúgos kezelés hatására a lizin, szerin, treonin, arginin és cisztin bomlását találtuk jelentősnek. Az első három aminosavval kapcsolatos vizsgálatok eredménye a 4. ábrán látható. Ezek szerint a szerin és a treonin, de főleg a lizin elég széles koncentráció-tartományban szerepelt a vizsgált fehérjékben. A lúgos kezelésre bekövetkező, százalékban kifejezett bomlás lényegében függetlennek bizonyult a fehérjében levő aminosavak részarányától. Kísérleti körülményeink között a vizs-

Fehérjékben levő cisztin bomlása 0,1 N NaOH,
100 °C, 1 óra lúgos kezelés hatására



6. ábra: Fehérjékben levő cisztin bomlása 0,1 n NaOH, 100 °C, 1 óra lúgos kezelés hatására

1. táblázat

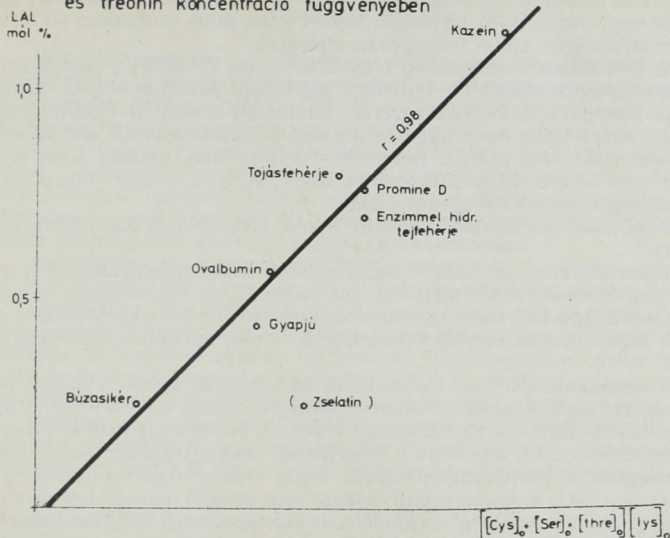
Egyes fehérjetartalmú élelmiszerek lizinoalanin-tartalma mg/100 g fehérje

Megnevezés	Mintaszám	Átlag	Szélso értékek
Sovány tejpor	2	34	16–53
Magyar csecsemőtápszerek:			
Robébi A	5	165	142–200
Robébi B	4	169	131–221
Linolac	1	105	
Külföldi csecsemőtápszerek	7	75	53–116
Tejsavópor	1	42	
Nátriumkazeinát	1	89	
Szójaliszt	1	63	
Pörkölt szójaliszt	1	158	
Szója koncentrátum	7	62	42–79
Promine D	1	26	
Tojáspor	1	89	
Búzasiker	1	11	
Kenyérhéj	1	84	
Lúgosan kezelt fehérjék (0,1 n NaOH, 100 °C 1 óra)	8	1640	530–2780

gált aminosavak 30–40%-a bomlott el. Látható, hogy a lizin egy része LAL-lá alakult át.

Az 5. ábrán az egyes fehérjefajtákban levő, a csecsemőkre nézve esszenciális arginin bomlása látható. A bomlás mértéke %-ban kifejezve itt is nagyjából azo-

Lizinoalanin keletkezése lúgosan kezelt fehérjékben a lizin, cisztin, szerin és treonin koncentráció függvényében



7. ábra: Lizinoalanin keletkezése lúgosan kezelt fehérjékben a lizin, cisztin, szerin és treonin részarány függvényében

nos, tehát az aminosav-mólarány alig befolyásolja. Az arginin bomlása közben részben ornitinné alakult át. Megfigyelhető, hogy az argininmólarány növekedésével az ornitin mennyisége is növekszik, de szoros összefüggés nem volt található a két tényező között.

Az egyes fehérjefajtákban meglehetősen széles koncentrációtartományban (0,3–8 mól %) mutatózó cisztin százalékosan megmaradó mennyisége szoros korrelációt adott a kezdeti mólarányának reciprokával (6. ábra). A zselatin viselkedése viszont teljesen elüt a többi fehérjétől, a regressziós egyenes számításánál nem vetjük figyelembe.

Noha már többen leírták, hogy nagy lizintartalmú tej- és tojásfehérjében könnyebben képződik a LAL (21), mégis a keletkezés feltételeiről kvantitatív összefüggést még nem írtak le. A 7. ábrán levő diagramon látható, hogy a keletkező LAL mennyisége arányos a nem kezelt fehérjében levő lizin-mólarány és a béta-eliminációban résztvevő aminosav (cisztin, szerin, treonin) mólarányok összegének a szorzatával. Az eléggé szoros összefüggés ($r = 0,98$) alapján kimondhatjuk, hogy a tej-, tojás- és talán még a szójafehérje a lúgos kezelés hatására potenciálisan LAL képződésre hajlamos, a sikkér pedig nem. Hasonlóan a 6. ábrához, a zselatin itt is rendellenességet mutat, viszonylag nagy lizintartalma ellenére is kevés LAL keletkezett belőle. Feltételezzük, hogy mindkét jelenség egy okra vezethető vissza: a fehérjében levő cisztin a zselatinban meglehetősen rezisztensnek mutatkozik lúgos kezelés hatására. Ennek a rezisztenciának a magyarázatára (esetleg a cisztin-cisztein forma aránya?) további kísérletek szükségesek.

Az egyes fehérjetartalmú élelmiszerek LAL tartalmára vonatkozó összesítés t az 1. táblázat mutatja be. Az ábrából az alábbi következtetéseket vontuk le:

a) Az általunk alkalmazott, magas hőmérsékletű lúgos kezelés mindössze egy nagyságrenddel nagyobb LAL-mennyiséget hozott létre, mint az iparban alkalmazott, többnyire hőkezelésre épülő feldolgozási eljárások.

b) A LAL keletkezését befolyásoló tényezők hatása (7. ábra) a feldolgozott fehérjékre is érvényesnek látszik. A tejfehérje különösen hajlamos a LAL-képződésre. Feltűnően magas a csecsemőtápszerek, különösen a magyar készítmények LAL tartalma, amely esetleg összefüggésbe hozható az előállításuknál alkalmazott többszörös hőkezeléssel. Ha a LAL potenciális nefrotoxikus hatását szem előtt tartjuk, akkor ezek az eredmények figyelmeztetőek, mivel a vizsgált tápszerek a csecsemők kizárólagos táplálékát alkothatják.

c) A fokozott hőkezelés általában növelte a LAL mennyiségét (kenyérháj, pörkölt szójaliszt).

d) Figyelemre méltó az általunk vizsgált külföldi szójakoncentrátumok és izolátum viszonylag alacsony LAL tartalma. Az eredmények összhangban vannak azokkal az újabb adatokkal, mely szerint a szójapreparátumok gyártásánál a régebbi intenzív lúgos behatás helyett kiméletesebb termoplasztikus eljárásokat alkalmaznak.

Vizsgálati eredményeinket az alábbiakban foglalhatjuk össze. A magas hőmérsékleten végzett lúgos kezelés csökkenti a fehérjék táplálkozási értékét, a legfontosabb esszenciális aminosavak károsítása révén. A biológiaiailag nem különböző aminosav-származék, a LAL általában a fehérjékben levő egyes aminosavak részaránya által megszabott mértékben keletkezik. Végül – megerősítve a külföldi irodalmi adatokat – a LAL az alkáli nélküli hőkezelésen alapuló ipari feldolgozási eljárások során is jelentős mennyiségben jön létre és keletkezésének feltételei hasonlóaknak látszanak, mint a lúgosan kezelt fehérjéké. A kérdés fontosságát nagymértékben meghatározza a továbbiakban az, hogy a LAL és esetleg egyéb aminosav-származékok ártalmasaknak bizonyulnak-e az emberi szervezetre, avagy nem.

IRODALOM

- (1) *Rhogozim S. V.*: Prikladnaja Biohim. i Mikrobiol. (Moszkva) 10, 841, 1974.
- (2) *Finley J. W., Snow J. T., Johnston P. H., Friedman M.*: J. Food Sci., 43, 619, 1978.
- (3) *Provansal M. M. P., Cuaq J. L. A., Cheftel J. C.*: J. Agric. Food Chem. 23, 938, 1975.
- (4) *Nashef A. S.*, et al. J. Agric. Food Chem., 25, 245, 1977.
- (5) *Circle S. J., Smith A. K.*: Processing soyflours, protein concentrates and protein isolates: „Soybeans: Chemistry and technology” Vol. 1. 294–238. Avi Publ. Co. Westport 1972.
- (6) *Tannenbaum S. R., Ahern M., Bates R. P.*: Food Technol., 29, 604, 1970.
- (7) *Hermannsson A. M., Swik B., Skjoldbrand C.*: Lebensm. Wiss. Technol., 4, 201, 1971.
- (8) *Katz S. H., Hediger M. L.*: Science, 184, 765, 1974.
- (9) *Hill R. L.*: Adv. Prot. Chem., 20, 37, 1965.
- (10) *Asquith R. S., Carthew P., Hanna H. D., Otterburn M. S.*: J. Soc. Dyers and Colorists 90, 357, 1974.
- (11) *Bohak Z.*: J. Biol. Chem., 239, 2878, 1964.
- (12) *Ziegler K., Melchert I., Lurken C.*: Nature, 214, 404, 1967.
- (13) *Woodard J. C.*: Lab. Invest., 20, 9, 1969.
- (14) *Woodard J. C., Alvarez M. R.*: Archs. Path., 84, 153, 1967.
- (15) *Woodard J. C., Short D. D.*: J. Nutr., 103, 569, 1973.
- (16) *Woodard J. C., Short D. D.*: Food and Cosmetics Toxicology, 15, 117, 1977.
- (17) *Struthers B. J., Dahlgren R. H., Hopkins D. T. J.*: Nutr., 107, 1190, 1977.
- (18) *de Groot A. P., Stump P., Feron V. J., van Beek L.*: J. Nutr., 106, 1527, 1976.
- (19) *Sternberg M., Kim C. Y., Schwende F. J.*: Science, 190, 992, 1975.
- (20) *Sternberg M., Kim C. Y., Plunkett R. A.*: J. Food Sci., 40, 1168, 1975.
- (21) *Watanabe K., Klostermeyer H.*: Z. V. L. 164, 77, 1977.

ОБРАЗОВАНИЕ АМИНОКИСЛОТНЫХ ПРОИЗВОДНЫХ ПРИ ЩЕЛОЧНОЙ ОБРАБОТКЕ ПИЩЕВЫХ БЕЛКОВ

Дворшак Э., Ерши Ф.

При производстве белков нового типа, операции обнаружения, очистки, концентрации и текстурации часто требует проведение щелочной обработки при высших температурах. Согласно литературным данным эти способы некоторые группы аминокислот (цистин, треонин, серин (γ и OH в случае β-элиминации) уходят и образующиеся производные дегидроаланина способны соединиться с аминокислотами содержащих в белках базисные или дисульфидные группы. Таким образом создающееся одно производное так называемое лизино-аланин в свободном виде, при низких концентрациях (ниже 100 ppm) в почках крысов является токсичным.

Авторы при температуре 100°C в течении 1-го часа исследовали действие 0,1 N щелочной обработки белков с разным аминокислотным составом.

Преобразование цистина повышалось пропорционально с количеством этих аминокислот, а в то же время содержание лизина белка не оказывало действие на реакцию лизина. Количество образующейся лизино-аланина является пропорциональным соотношением моля лизина и произведением суммы соотношения моля на β-элиминацию склонной аминокислоты.

Определяли содержание лизино-аланина некоторых белковых продуктов питания, согласно полученным данным на образование лизино-аланина способствует также и в технологии применяемая термообработка.

BILDUNG VON AMINOSÄUREDERIVATEN WÄHREND DER ALKALISCHEN BEHANDLUNG VON LEBENSMITTELPROTEINEN

E. Dworschák und F. Örsi

Bei der Herstellung von neuartigen Proteinen benötigen die Aufschliessungs-, Reinigungs-, Konzentrierungs- und Texturierungsvorgänge oft eine alkalische Behandlung bei höheren Temperaturen. Nach den Literaturangaben treten die -SS- bzw. -OH Gruppen einigen Aminosäuren (Cystin, Threonin, Serin) bei diesen Verfahren während der Beta-Elimination aus, und das entwickelte Dehydroalaninderivat ist fähig, sich mit den in Protein anwesenden, basischen oder Disulfidgruppen enthaltenden Aminosäuren zu vereinigen. Lysinoalanin, eines der auf solche Weise gebildeten Derivate übt in freiem Zustand sogar in niedrigen Konzentrationen (unter 100 ppm) eine toxische Wirkung auf die Nieren von Ratten aus.

Die Autoren untersuchten daher die Wirkung einer bei 100°C eine Stunde lang dauernden Behandlung mit 0,1 N Alkali auf Proteine unterschiedlicher Aminosäurezusammensetzung. Die Umwandlung des Cystins erhöhte sich der Menge dieser Aminosäuren proportional, während die Reaktion des Lysins durch den Lysingehalt des Proteins kaum beeinflusst wurde. Die Menge des enstrandenen Lysinoalanins war dem Produkt des Molverhältnisses des Lysins und der Summe der Molverhältnisse der zur Beta-Elimination geeigneten Aminosäuren proportional.

Es wurde ferner der Gehalt einiger proteinhaltigen Lebensmittel an Lysinoalanin bestimmt. Nach den analytischen Angaben wird die Bildung von Lysinoalanin auch durch die bei der Technologie angewandten Wärmebehandlung begünstigt.