

HIGIENA ŚRODKÓW SPOŻYWCZYCH

ZYGMUNT SZKUTNIK

Oznaczanie aminokwasów w hydrolizatach mięśni konia, świni, bydła i owcy

Doniesienie wstępne

Z Katedry Higieny Produktów Zwierzęcych WSR w Lublinie
Kierownik: Prof. dr A. TRAWIŃSKI

Wśród substancji odżywczych koniecznych dla ustroju, białka zajmują specjalne stanowisko zarówno fizjologicznie jak i ekonomicznie. Fizjologicznie, ponieważ są częstkami składającymi strukturę komórek, a przez swój udział w budowie enzymów współuczestniczą we wszystkich przemianach i czynnościach ustroju i nie mogą być zastąpione bez reszty przez inny składnik pokarmowy, ekonomicznie zaś, ponieważ białko jest najdroższym składnikiem pożywienia. To też problem białka, jego budowa i jego wartość biologiczna wysuwa się na czoło badań w fizjologii i higienie żywienia. Długotrwałe i żmudne badania wykazały, iż problem białka rozpatrywany od strony zużytkowania go przez ustrój rozpada się na dwa zasadnicze zagadnienia, a mianowicie: zagadnienie strawności substancji białkowych i zagadnienie zużytkowania przez organizm substancji strawionych.

Problem strawności substancji białkowych daje się rozwiązać przez oznaczenie różnicy między azotem doprowadzonym z pożywieniem, a azotem wydalany w kale, przy czym uwzględnia się niekiedy w badaniach azot pochodzący z niecałkowicie wchłoniętych soków trawiennych badanego organizmu. Problem zużycia białka dotyczy przemiany i wykorzystania strawionych substancji azotowych w ustroju. Cegiełkami budulcowymi tworzącymi białko czyste, są przeważnie aminokwasy. Aminokwasy te są przez organizm różnie wykorzystywane, a stopień ich wykorzystania znajduje wyraz w tzw. wartości biologicznej białka. O wartości biologicznej białka strawnego decydują aminokwasy, spośród których główną rolę odgrywają tzw. aminokwasy niezbędne, zwane również niezastąpionymi lub egzogennymi.

Organizm posiada wprawdzie zdolność budowania niektórych aminokwasów ze składników występujących w ustroju, niektóre jednak z nich muszą być mu dostarczone w formie gotowej i te są niezbędne dla prawidłowego funkcjonowania ustroju. Do aminokwasów niezbędnych zaliczamy: lizynę, tryptofan, histydynę, fenyloalaninę, leucynę, izoleucynę, treoninę, metioninę, walinę i argininę. Nie znaczy to jednak, iż aminokwasy drugiej grupy mogą być przez ustrój syntetyzowane w nieograniczonej ilości.

W zależności od zawartości aminokwasów dzielimy białka na pełnowartościowe — wtedy zawierają wszystkie niezbędne aminokwasy, których ustrój sam syntetyzować nie potrafi, względnie na białka niepełnowartościowe, które albo nie zawierają jednego lub więcej aminokwasów egzogennych — niezbędnych, bądź zawierają je w niedostatecznej ilości. Do pierwszych zaliczamy przeważnie białka pochodzenia zwierzęcego, do drugich zaś białka roślinne.

Pierwszym badaczem, który wykazał, że białka są zbudowane z drobnych cegiełek — aminokwasów był Braconnot, który w 1819 r. gotując klej z wodą barytową otrzymał glikokol i leucynę. W roku 1875 Schützenberger wykazał, że przy ogrzewaniu białka z wodą barytową w autoklawie w temperaturze 200°C, powstająca mieszanina składała się wyłącznie z aminokwasów. Dopiero jednak Fischer na przełomie XIX i XX wieku za pomocą opracowanej przez niego metody estryfikacji, pierwszy przebadał skład skomplikowanej mieszaniny powstałej z białek pod wpływem hydrolizy. Stosował on hydrolizę za pomocą stężonego kwasu solnego, lub 25% kwasu siarkowego, a następnie zamieniał uwolnione aminokwasy na ich estry, które wyosobniał za pomocą estryfikacji frakcjonowanej.

Dużym postępowaniem w dziedzinie rozdziału aminokwasów wchodzących w skład białek była wprowadzona w 1918 roku przez Dakina metoda zamieniania aminokwasów o charakterze zasadowym w nierozpuszczalne sole, za pomocą kwasu fosforowolframowego; powstałe sole wyosobniał on na zasadzie ich zdolności przechodzenia z kwaśnego wodnego roztworu do roztworów butanolu. Wspomnieć jeszcze należy o szeroko stosowanej metodzie Van Slyka posługującej się techniką oznaczania azotu wg Kieldahla i oznaczania grup aminowych na podstawie reakcji z kwasem azotawym.

Z nowszych metod jest stosowana elektrodializa, polegająca na gromadzeniu się aminokwasów obojętnych i zasadowych w komorze katodowej oraz kwaśnych przy anodzie.

Od 1943 r. stosuje się metodę mikrobiologiczną, po raz pierwszy wprowadzoną przez Snella i Dunna. Jest to metoda bardzo czuła jeśli idzie o ilościowe oznaczanie aminokwasów. Stosuje się tu różne szczepy testowe drobnoustrojów jak: *Leuconostoc mesenteroides*, *Leuconostoc arabinosus* i *citrovorum*, *Lactobacillus brevis*, *leichmanni* i inne. Wykorzystuje się tu fakt, że niektóre drobnoustroje mogą rozwijać się na podłożu sztucznym jedynie w obecności pewnych aminokwasów, będących dla tych drobnoustrojów niezbędnym — egzogennym składnikiem pokarmowym. Przy braku odpowiedniego aminokwasu w pożywce hodowla nie rozwija się, natomiast po dodaniu brakującego aminokwasu do pożywki rozwój hodowli jest proporcjonalny do ilości dodanego aminokwasu. Uzyskiwane przy tej metodzie ilości aminokwasów pokrywają się z ilościami otrzymywanymi przy pomocy metod chemicznych. Do ujemnych cech tej metody należy przede wszystkim tendencja do zmian właściwości biologicznych, jaką wykazują stosowane drobnoustroje, oraz trudności w otrzymywaniu szczepów wzorcowych.

Trzeba również wspomnieć o stosowaniu izotopów do badań nad ilościowym składem aminokwasowym białek, zapoczątkowanym przez Rittenberga i jego współpracowników. Punktem wyjścia tej metody jest zastosowanie syntetyczne otrzymanych aminokwasów, zawierających zamiast zwykłego azotu w grupie aminowej, izotopowy N^{15} . Metoda ta jest może najdokładniejszą metodą ilościowego oznaczania aminokwasów, jednakże skomplikowana i droga aparatura stoi na przeszkodzie w jej rozpowszechnieniu.

W ostatnich latach nadzwyczaj szerokie zastosowanie w badaniach nad naturalnymi mieszaninami biologicznymi znalazła metoda chromatograficzna, która w dużym stopniu zastąpiła wyczerpane w swoich możliwościach metody klasyczne i stworzyła nowe drogi do badania najtrudniejszych substratów, w których bezsprzecznie pierwsze miejsce zajmuje białko.

Właściwym twórcą chromatografii był rosyjski botanik Cwieta, który pierwszy na zasadzie odwracalnej adsorpcji rozdzielił mieszaninę barwników roślinnych na kolumnie węglanu wapnia. W oryginalnym doświadczeniu Cwieta poszczególne składniki mieszanin przesączone wzdłuż kolumny adsorbentu zatrzymywały się na różnych poziomach — w zależności od charakterystycznego dla danego składnika powinowactwa adsorbcyjnego — tworząc wyraźnie odgraniczone barwne warstwy. W latach 1920—1940 chromatografia adsorbcyjna rozpowszechniła się jako jedna z ważnych metod analitycznych i preparatywnych. Jej możliwości nie ograniczyły się tylko do analizy substancji i preparatyki w biologii, ale przeniesione do przemysłu otworzyły sze-

rookie perspektywy dla najbardziej racjonalnej organizacji procesów technologicznych.

Jednakże punktem zwrotnym w rozwoju chromatografii było wprowadzenie w roku 1941 przez Martina i Synga modyfikacji opartej w przeciwieństwie do analizy adsorbcyjnej nie na powinowactwie adsorbcyjnym, a na współczynniku podziału danej substancji pomiędzy dwa nie mieszające się ze sobą rozpuszczalniki. Jeden z nich — zwykle rozpuszczalnik organiczny — stanowi fazę ruchomą, podczas gdy drugi — najczęściej faza wodna — stanowi fazę nieruchomą chromatogramu. Faza wodna jest niejako unieruchomiona w żelu krzemionkowym, który jest materiałem podporowym dla tej fazy. Prosta i wygodna w użyciu chromatografia rozdzielcza znalazła szerokie zastosowanie do analizy i preparatyki całego szeregu substratów jak np. hydrolizaty białkowe, węglowodany, alkaloidy, barwniki, witaminy, środki lecznicze, izotopy itd.

W roku 1944 udało się Martinowi i współpracownikom użyć bibuły filtracyjnej jako mechanicznej podpory dla fazy wodnej w miejsce żelu krzemionkowego. Wprowadzona przez Martina chromatografia kolumnowa i bibułowa otrzymała nazwę chromatografii rozdzielczej kolumnowej i bibułowej. Technika chromatografii rozdzielczej obejmuje już dzisiaj oprócz aminokwasów, węglowodanów i kwasów organicznych, białka i peptydy, związki o budowie sterydowej, barwniki i ich pochodne, węglowodory, alkaloidy, hormony i witaminy, antybiotyki, toksyny, antygeny bakteryjne, a w końcu większość związków nieorganicznych. Podkreślić należy sukcesy bezsprzecznie uzyskane przy zastosowaniu tej metody do rozdzielania białek i enzymów. Na korzyść tej metody przemawia stosunkowo łatwa technika analizy i minimalne ilości substratu potrzebne do przeprowadzenia oznaczenia.

W niniejszej pracy przeprowadzono hydrolizę kwaśną i enzymatyczną białek mięsa konia, krowy, owcy i świni, które to hydrolizaty badano w kierunku składu aminokwasowego metodą chromatografii bibułowej.

Część doświadczalna

Do analiz użyto mięso krowy, konia, owcy i świni z kończyny tylnej (*m. quadriceps femoris*) w ilości 100 g. Oznaczono białko, wodę i tłuszcz. Zmielone mięso wysuszone i odtłuszczone ucierano w móżdżerzyku, a następnie przesiano przez drobne sito o średnicy oczek 0,2 mm. Próbkę w ilości 0,5 g hydrolizowano w wypadku pierwszym 20% kwasem solnym w temperaturze 120°C, przy ciśnieniu 1 $\frac{1}{2}$ atmosfery przez 4 godziny w autoklawie, w wypadku drugim zaś 0,5 g substratu umieszczono w 4 ml 2% roztworu trypsyny w bu-

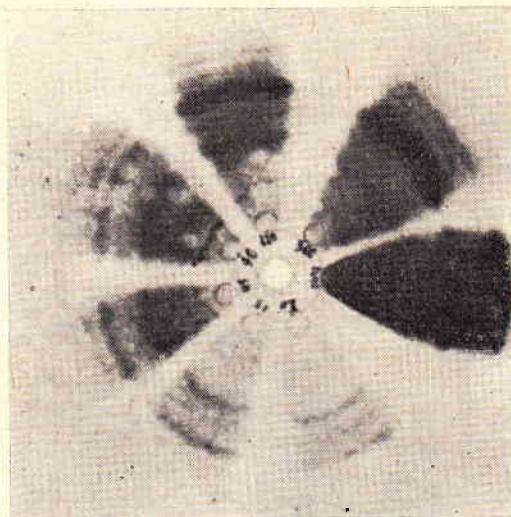
forze fosforanowym. Hydrolizę enzymatyczną przeprowadzano w optimum stężenia jonów wodorowych i temperatury. Próbkę z hydrolizy enzymatycznej pobierano: natychmiast po zmieszaniu z enzymem, po 15 min., po 45 min., po 1½ godz., 2 godz., 6 godz., i 24 godz., w ilości 0,5 ml. Hydrolizat kwaśny po odparowaniu kwasu solnego pod próżnią i trzykrotnym przemyciu wodą oraz wysuszeniu, rozpuszczano w 5 ml wody. Otrzymano roztwór koloru brązowego o pH 2—3, który utrwalano toluolem. Tak przyrządzony płyn używaliśmy do analizy chromatograficznej. W hydrolizatach enzymatycznych po pobraniu próbki enzym unieczyniano przez zagotowanie. Próbkę odbiałczano trzykrotną objętością alkoholu absolutnego. Alkohol usuwano na drodze ekstrakcji chloroformowej. Pozostałość — to wodny roztwór aminokwasów, który był użyty do porównawczej analizy chromatograficznej bibułowej.

Zastosowano chromatografię jednokierunkową wstępującą i krążkową, oraz chromatografię dwukierunkową w układach: fenol-woda w stosunku objętościowym 7:3 w kierunku pierwszym, propanol-woda w stosunku 7:3 w kierunku drugim; fenol wysycony buforem fosforanowym o pH 11,2 w kierunku pierwszym, butanol-kwas octowy-woda w stosunku 4:1:5, bądź propanol-kwas mrówkowy — woda w kierunku drugim, ewentualnie butanol-metanol-woda w kierunku pierwszym i fenol w atmosferze amoniaku w kierunku drugim. Chromatogramy jednokierunkowe i krążkowe przeprowadzano w wyż. wymienionych układach.

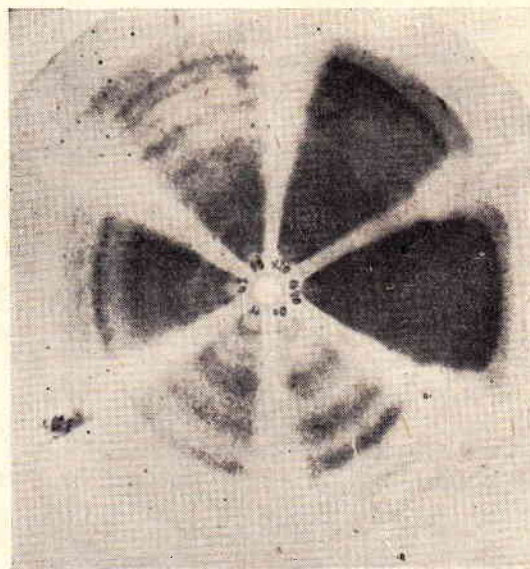
Komory chromatograficzne stanowiły dwa eksykatory zestawione szlifami. Do rozdzielania użyto bibuły chromatograficznej angielskiej Whatman Nr 1, 3 i 4 oraz niemieckiej Macherei-Nagel Nr 60 i 61.

Na bibułę o wymiarach 26×28 cm wkraplało po 13 µl hydrolizatów. Aminokwasy uwiadczniano 0,2% acetonowym roztworem ninhydryny oraz 0,2% roztworem acetonowym izatyny wzgl. brom-izatyny. W przypadku stosowania izatyny nanoszono na chromatogramy dwukrotnie większe ilości hydrolizatów. Otrzymane chromatogramy hydrolizatów porównywano z chromatogramami 0,1% roztworów aminokwasów kontrolnych, oraz w celu lepszej identyfikacji aminokwasy kontrolne nakraplano obok i łącznie z substratem badanym. Badane hydrolizaty kwaśne i enzymatyczne pozwalają stwierdzić na chromatogramach szereg plam, które barwą i umiejscowieniem odpowiadały aminokwasom kontrolnym, a mianowicie: hydrolizaty kwaśne mięsa czterech badanych zwierząt leucynie, izoleucynie, alaninie, argininie, kw. asparaginowemu, kw. glutaminowemu, glikokolowi, lizynie, fenyloalaninie, prolinie, serynie, treoninie, tyrozynie, walinie, i taurynie, oraz bardzo słabo zazna-

zione plamy odpowiadające cystynie, histydynie, metioninie i tryptofanowi. Hydrolizaty enzymatyczne dopiero po 24 godzinnym trawieniu trypsyną wykazują obrazy chromatograficzne podobne do siebie z pełnym garniturem plam. Nie znaczy to, że hydrolizaty wcześniejsze, od 15 min. do 6 godzin nie wykazują plam aminokwasowych. Występują one na chromatogramach, ale natężenie, wielkość i ilość plam w hydrolizatach z mięsa różnych gatunków zwierząt rzeźnych wykazuje różnice.



Chromatogram krążkowy enzymatycznego hydrolizatu mięsa świni: lo — wyciąg aminokwasowy mięśnia natychmiast po dodaniu enzymu
15 — po 15 min. trawienia trypsyna
45 — po 45 min. „ „
90 — po 90 min. „ „
120 — po 2 godz. „ „
360 — po 6 godz. „ „
1640 — po 24 godz. „ „



Chromatogram krążkowy enzymatycznego hydrolizatu mięsa owcy: Oo — wyciąg aminokwasowy mięśnia natychmiast po dodaniu enzymu
15 — po 15 min. trawienia trypsyna
45 — po 45 min. „ „
90 — po 90 min. „ „
120 — po 2 godz. „ „
1640 — po 24 godz. „ „

Mięso końskie po półtoragodzinnej hydrolyzie enzymatycznej daje 10 plam aminokwasowych, po 6 godzinach 20, ale o słabym natężeniu barwy, co wskazywałoby na nieduże ilości aminokwasów w hydrolizacie. Po 24 godzinnej hydrolyzie otrzymuje się również 20 plam, których natężenie jest już o wiele silniejsze.

Półtoragodzinny hydrolizat enzymatyczny mięsa świńskiego daje na chromatogramie 6 plam, po 6 godzinach 21 plam o słabym natężeniu zabarwienia po reakcji z ninhydriną, a po 24 godzinach też 21 plam o silnym natężeniu barwy.

Porównując hydrolizaty tych dwóch mięśni można przypuszczać, że mięso końskie ulega łatwiej hydrolyzie enzymatycznej niż mięso świńskie, ponieważ w krótszym czasie daje większą ilość plam aminokwasowych (w 1½ godziny 10 plam, podczas gdy mięso świńskie 6 plam). Jednakże po 24 godzinach mięso świńskie daje plamy większe i intensywniej barwiące się pod wpływem ninhydriny niż mięso końskie, co pozwala przypuszczać, że ilościowo mięso świńskie jest bogatsze w aminokwasy niż mięso końskie, względnie w mięsie końskim znajdują się ugrupowania odporne na działanie trypsyny i w związku z tym plamy hydrolizatu enzymatycznego mięsa końskiego są mniejsze i słabiej zabarwione. Za tą ostatnią koncepcją przemawiałyby dane z hydrolyzy kwaśnej. Hydrolizaty te na chromatogramach tak daleko idących różnic nie wykazywały.

Mięso krowy po półtoragodzinnej hydrolyzie enzymatycznej daje na chromatogramach 14 plam, a hydrolizat mięsa baraniego po tym samym czasie 17 plam. Po 6-ciogodzinnej hydrolyzie mięso krowy i owcy daje chromatogramy, na których znajduje się po 21 plam aminokwasowych zabarwionych intensywnie na fioletowo-niebiesko po reakcji z ninhydriną i których intensywność zabarwienia i wielkość

nie wiele się powiększa po 24 godzinach hydrolyzy.

Dane analizy chromatograficznej przemawiają za tym, że do 1½ godziny „trawienia“ mięso owcze jest bardziej podatne na działanie enzymu niż mięso wołowe, ale różnice te w miarę postępu hydrolyzy zacierają się i po 6 godzinach hydrolyzy, obrazy chromatograficzne są jednakowe.

Reasumując dane analizy chromatograficznej hydrolizatów enzymatycznych mięsa konia, świni, krowy i owcy możnaby powiedzieć, że najłatwiej poddaje się działaniu enzymu, mięso owcy i krowy, następnie końskie, a potem

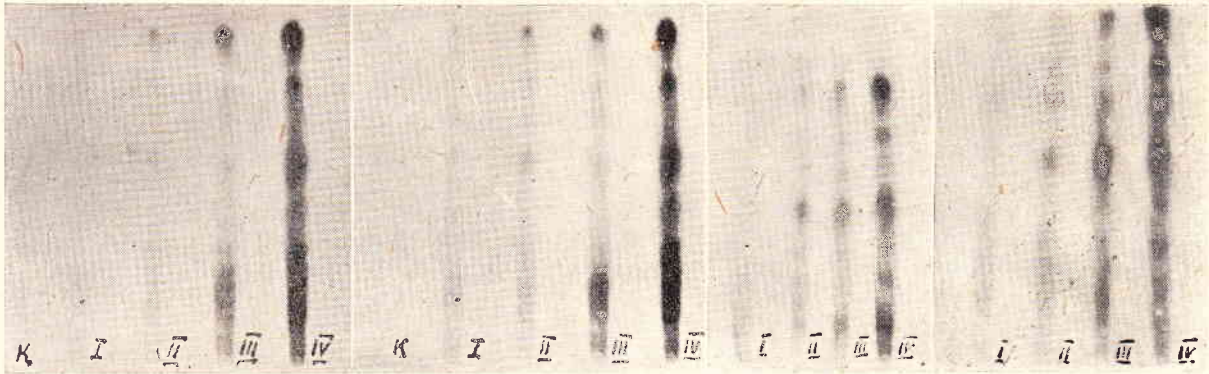
Jeżeli chodzi o jakościowy skład aminokwasowy, to zauważa się niewielkie różnice w wielkości i intensywności zabarwienia niektórych plam aminokwasowych. Różnice te ilustruje tabela, w której oznaczono znakiem ± plamy o bardzo słabym natężeniu zabarwienia z ninhydriną, które po eluowaniu acetonem dawały od 80 do 90% ekstynkcji (przepuszczalność) na fotokolorymetrze Leitza, nastawionym na 100% ekstynkcji na eluat bibuły, zroszonej wywoływaczem. Znakiem + oznaczono plamy, których eluaty dawały 60 do 80% ekstynkcji, dwoma plusami eluaty plam o ekstynkcji 40 do 60%, trzema plusami eluaty plam, których ekstynkcja była niższa niż 40%. Użyto w każdym wypadku filtru A. Najwybitniejsze różnice zaznaczały się w eluatach plam histydyny, lizyny, glutaminy, cystyny, tryptofanu i waliny.

Chromatogramy hydrolizatów kwaśnych w składzie jakościowym aminokwasów są podobne do chromatogramów 24 godzinnych hydrolizatów enzymatycznych. Zaznaczają się jedynie różnice w plamach aminokwasowych tryptofanu, metioniny, argininy, tyrozyny, histydyny i cystyny, które to aminokwasy ulega-

Czas w godzin.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	plamy nieozn. ogółem plam	U w a g i
	alanina	arginina	kwas asparag. cystyna	kwas glutam.	glikokol	histydyna	izoleucyna leucyna	lizyna	metionina	fenylalan.	prolina	seryna	treonina	tryptofan	tyrozyna	walina	oksyprol.	tauryna	asparagina	glutamina			
Koń	1,5	±	-	±	++	±	-	+	-	-	±	-	-	±	-	-	±	-	-	-	±	1	10
	24	+++	+	±	+++	+	++	++	+	+	+	+	++	±	+	+++	+	+	-	+	+	1	20
Swinia	1,5	++	-	±	+	+	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	6
	24	+++	++	±	+++	++	++	+++	+	+	+++	+	++	±	++	++	-	+	-	+	+	2	21
Bydło	1,5	++	++	±	+	±	++	+++	-	±	+	-	±	+	-	+	±	-	-	-	+	1	14
	24	+++	++	±	+++	++	++	+++	+	+	+++	+	++	+	+	++	+	+	-	+	+	2	21
Owca	1,5	++	++	±	++	+	+	++	+	±	+	-	±	+	-	+	++	-	-	-	+	1	17
	24	+++	++	±	+++	++	+	+++	++	+	+++	+	++	+	+	++	+	+	-	+	+	2	21
czysty enzym kontr.	1,5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0
	24	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0

ją częściowemu zniszczeniu w procesie hydrolyzy kwaśnej. Z uwagi na to, że w procesie hydrolyzy kwaśnej ginie część aminokwasów egzogennych, lepszą jest hydrolyza enzymatyczna. Na korzyść tej ostatniej przemawia jeszcze jej aspekt biologiczny i możliwość stwierdzenia szybkości przebiegu trawienia.

żywienia odgrywa pewną rolę. Chromatografia dzięki nieskomplikowanej aparaturze i stosunkowo łatwej technice analizy pozwala na rozdzielenie i określenie obok aminokwasów endogennych, również aminokwasów egzogennych. Mankamentem metody jest stosunkowo duży błąd przy bezwzględnym określaniu ilo-



Chromatogramy jednokierunkowe enzymatycznych hydrolizatów mięsa świni, konia, bydła i owcy:
 K — Wyciąg z enzymu (kontrola na ewent. obecność wolnych aminokwasów w enzymie)
 I — Wyciąg aminokwasowy mięśnia po 45 min. trawienia trypsyną
 II — „ „ „ „ po 90 min. „ „
 III — „ „ „ „ po 2 godz. „ „
 IV — „ „ „ „ po 6 godz. „ „

D. Melnick, B. Oser i S. Weiss przeprowadzili w 1946 roku ciekawe prace dla wyjaśnienia znaczenia szybkości enzymatycznego trawienia białek odnośnie ich wartości odżywczej. Doszli oni do wniosku, że dla optymalnego zużycia białek pokarmu, wszystkie egzogenne aminokwasy powinny być nie tylko dostępne do przyswojenia, ale także powinny oswobadzać się z pokarmu przy trawieniu z szybkością, zapewniającą uzupełnienie ich zapasów w tkankach. Przyczyną różnic w wartości odżywczej białek może być również różnica w szybkości oswobodzenia poszczególnych aminokwasów w przewodzie pokarmowym. Riesen i współpracownicy podkreślają także, że aminokwasowy skład białek, oznaczony przez kwaśną hydrolyzę, nie może być uważany za kryterium do wnioskowania o stopniu odszczepiania się tego, czy innego aminokwasu przy trawieniu enzymatycznym.

Zaznaczyć należy, że otrzymane przeze mnie względne dane ilościowe pokrywają się z wynikami analizy mięsa przeprowadzanej metodą mikrobiologiczną przez B. S. Schweigert i współpracowników w latach 1945—1953. Jednakże autorowie ci oznaczali przede wszystkim aminokwasy egzogenne, nie określając całego składu aminokwasowego mięsa.

Organizmy zwierząt i człowieka posiadają wprawdzie zdolność syntetyzowania niektórych aminokwasów, które nazywamy endogennymi, ale nie znaczy to, iż aminokwasy te mogą być przez ustrój syntetyzowane w ilości nieograniczonej. Doprowadzenie tych aminokwasów do organizmu w fizjologii i higienie

ściowym aminokwasów w hydrolizatach, przeprowadzonych przy użyciu kwasów i zasad, który to błąd niewspółmiernie maleje w wypadku użycia czystych aminokwasów, względnie przeprowadzenia hydrolyzy enzymatycznej, to też w niniejszej pracy oznaczono nie bezwzględne, ale względne wartości ilościowe w eluatach plam po hydrolyzie enzymatycznej.

Praca niniejsza potwierdza znany już od dawna fakt, że mięso zawiera pełny skład aminokwasów egzogennych obok endogennych, ale udało mi się wykazać, że mięso różnych zwierząt rzeźnych podczas hydrolyzy enzymatycznej przeprowadzonej w jednakowych warunkach doświadczalnych, uwalnia różne ilości i jakości aminokwasów. Dzięki analizie chromatograficznej uszeregowałem mięso najczęściej spożywane w pewnej kolejności pod względem szybkości trawienia przy pomocy trypsyny. Najłatwiej trawionym jest mięso baranie, potem wołowe, a następnie końskie i świńskie.

Piśmiennictwo

- 1) Fedorowa F. A., Konikowa A. S.: Dokł. Akad. Nauk S.S.S.R. T. LXXII, Nr 4, 1950.
- 2) Marchlewski L., Skarżyński B.: Chemia Fizjologiczna, Kraków, T. I, 1947, T. II, 1950.
- 3) Melnick D., Oser B., Weiss.: Science, 103, 1946.
- 4) Mierzejewski T., Skulmowski J.: Annales UMCS sec. DD, vol. VI, 1952.
- 5) Niewiarowicz A.: Przemysł Rol. i Spoż., Nr 12, 1955.
- 6) Riesen W. H., Clandinin D. R., Elvehjem C. A. a. Cravens W. W.: J. of Biol. Chem. 167, 1947.
- 7) Schweigert B. S., Bennet B. A., Guthe B. T.: J. of Biol. Chem., vol. 190, Nr 2, 1951.
- 8) Trawiński A.: Mięsoznawstwo, Warszawa, 1948.

ЗИГМУНТ ШКУТНИКZYGMUNT SZKUTNIK

ОПРЕДЕЛЕНИЕ АМИНОКИСЛОТ В ГИДРОЛИЗАТАХ МЫШЦ ЛОШАДИ, СВИНИ, КОРОВЫ И ОВЦЫ

Куски мускулов лошади, свини, коровы и овсы после обезжирения и измельчения подвергнуты энзиматическому и кислому гидролизу. Освобожденные этим путём аминокислоты соответствовали по хроматограммам контрольным аминокислотам: лейцину, изолейцину, аланину, аргинину, аспарагиновой, глутаминовой кислоте, гликоколу, лизину, фенилаланину, пролину, серину, треонину, тирозину, валину, таурину, цистину, гистидину, метионину и триптофану. После гидролиза трипсином (6 часов) проведенного в одинаковых условиях получено из мяса различных видов животных не все аминокислоты и в неодинаковых количествах. Самый лучший гидролиз трипсином определено для мяса овцы, несколько хуже представлялось это для коровы а еще хуже для лошади и свини.

DETERMINATION OF AMINOACIDS IN HYDROLISATES OF MUSCLES OF HORSES, PIGS, CATTLE AND SHEEP

Summary

Enzymatic and acid hydrolysis of minced samples of muscles deprived of fat were performed. Samples of horse, pig, cattle and sheep muscles were examined. Acid and enzymatic hydrolysis caused liberation of aminoacid, which by their position on chromatograms corresponded to the following control aminoacids: leucine, iso-leucine, alanine, arginine, asparaginic acid, glutaminic acid, glycocoll, lysine, phenylalanine, proline, serine, treonine, tyrosine, valine, taurine, cystine, histidine, methionine, and tryptophane.

By using trypsin in the course of hydrolysis conducted under the same experimental conditions not uniform as to the quantity and quality of aminoacids were obtained from meat of different species of slaughter animals during digestion lasting up to 6 hours. After 6 hours the enzymatic hydrolysis became in their quantitative and qualitative contents similar. In the course of hydrolysis up to 6 hours most easily was digested by trypsin meat of sheep, next meat of cattle, horse and finally that of pigs.

LECZNICTWO

A. SENZE, Z. SAMBORSKI

NITROGRANULOGEN PRZY CHRONICZNYCH NIEŻYTACH WYMIENIA U KRÓW

Z Kliniki Położniczej Wydziału Wet. W.S.R. we Wrocławiu
Kierownik: Prof. dr ALFRED SENZE

Pierwsze doświadczenia przeprowadzone przez jednego z nas (A. Senze) nad wartością nitrogranulogenu w leczeniu zapaleń wymion, wykazały korzystne jego oddziaływanie w stosunku do procesów ostrych. Analizując wtedy mechanizm działania wyrażono pogląd, że iperyt azotowy, usuwając znamiona zapalenia, zmniejsza równocześnie możliwości rozmnażania drobnoustrojów a tym samym powinien działać również korzystnie przy chronicznych nieżytach wymienia. Można było założyć, że wytworzone w rozmaitych miejscach gruczołu ogniska zapalne nie zawsze stykają się z podanym dowymieniowo antybiotykiem znajdując się jednak pod wpływem wprowadzonego do krwiobiegu iperytu azotowego. Tym samym nitrogranulogen przenikając przez barierę gruczołu mlekowego na podstawie przypuszczalnego „tropizmu“ do zapalnie zmienionych tkanek działa od strony właściwych uszkodzeń tkanki a nie od strony wysięku. Te założenia skłoniły autorów do dalszych doświadczeń nad działaniem nitrogranulogenu samego lub w kombinacji z antybiotykami przy chronicznych zapaleniach wymienia. Były one o tyle zachęcające, że w tym czasie dokonano znacznego postępu w odniesieniu do produkcji nitrogranulogenu.

O ile pierwszy wyprodukowany preparat cechował się dużą nietrwałością i czas możliwości jego zastosowania wahał się w granicach 3 miesięcy, o tyle dalsza produkcja zapewniła jego trwałość na szereg miesięcy. Tym samym przy pozytywnych wynikach można było liczyć na duże rozpowszechnienie preparatu w pracy terenowej. Ogółem w pracy uwzględniono 21 przypadków chronicznego nieżytku wymienia, które leczono samym nitrogranulogenem lub penicyliną czy riwanolem.

Stosownie do założeń w pierwszej pracy, celem uniknięcia nieobojętnego ubocznego działania, nitrogranulogen podawano w dawkach od 10—25 mg. W żadnym przypadku nie przekroczono ilości 25 mg. W leczeniu kombinowanym nitrogranulogenem z penicyliną uwzględniono, kilka możliwości. Podawano go równocześnie z penicyliną, stosowano najpierw penicylinę a potem nitrogranulogen, lub leczenie rozpoczynano od podania nitrogranulogenu a później stosowano penicylinę. Dwie ostatnie kombinacje miały na celu rozstrzygnąć, czy i który z nich jest w stanie poprawić działanie poprzednika. Tego rodzaju założenie posiada niewątpliwie duże luki wynikające z tej prostej przyczyny, że praktycznie nie jesteśmy w możliwości przeprowadzić dostatecznej kontroli co do rozmiaru zmian zapalnych. Sam bowiem obraz wydzieliny gruczołu mlekowego i zmiany w spoiści tkanki wymienia, nie zawsze stoją w prostym stosunku do rozmiaru uszkodzeń tej tkanki. Dlatego każdy przypadek chronicznego zapalenia wymienia jest inny i wymaga różnorodnego trak-