

# Evaluering van Suid-Afrikaanse proteïenbronse: Gebruik van kleurbinding as maatstaf van proteïenkwaliteit in vismele

G.A. Smith

Departement Veekunde, Universiteit van Pretoria, Pretoria

J.P. Hayes

Departement Pluimveekunde, Universiteit van Stellenbosch, Stellenbosch

Naomi Smith

Navorsingsinstituut vir Vee- en Suiwelkunde, Irene

**Evaluation of South African protein sources: Use of dye-binding as measure of protein quality in fish-meal** South African fish-meals differing in origin, composition and conditions of processing were evaluated for protein content, dye-binding capacity, dye-binding lysine, fluorodinitrobenzene-reactive lysine (FDNB), protein efficiency ratio (PER) and rat bio-available lysine values. A high degree of correlation ( $r = 0,988$ ) was found between dye-binding lysine and PER values as well as between dye-binding lysine and bio-available lysine values ( $r = 0,903$ ). It is concluded that the dye-binding lysine technique could serve as a quality control measure at the processing plants in the fish-meal industry.

*S Afr. J. Anim. Sci.* 1986, 16: 177 – 182

Suid-Afrikaanse vismele, van uiteenlopende oorsprong, samestelling en prosesseringstoestande is ten opsigte van proteïeninhoud, kleurbindingskapasiteit, kleurbindingsslisen, fluorodinitrobenzene-reaktiewe lisien (FDNB), proteïendoeltreffendheidsverhouding (PER) en bio-beskikbare lisien geëvalueer. 'n Hoëgraad van korrelasie ( $r = 0,988$ ) is tussen die kleurbindingsslisenwaarde en die proteïendoeltreffendheidsverhouding, sowel as tussen die kleurbindingsslisenwaarde en die bio-beskikbare lisien ( $r = 0,903$ ), wat met behulp van rotte bepaal is, waargeneem. Die gevolgtrekking word gemaak dat die kleurbindingsslisen-tegniek met vrug as kwaliteitsmaatstaf deur die vismeelnywerheid gebruik kan word.

*S Afr. Tydskr. Veek.* 1986, 16: 177 – 182

**Keywords:** Protein quality, dye-binding capacity, dye-binding lysine, fish-meal

G.A. Smith\*

Departement Veekunde, Universiteit van Pretoria, Pretoria, 0001  
Republiek van Suid-Afrika

J.P. Hayes

Departement Pluimveekunde, Universiteit van Stellenbosch,  
Stellenbosch, 7600 Republiek van Suid-Afrika

Naomi Smith

Navorsingsinstituut vir Vee- en Suiwelkunde, Privaatsak X2, Irene,  
1675 Republiek van Suid-Afrika

\*Aan wie korrespondensie gerig moet word

Ontvang 6 Augustus 1985

## Inleiding

Die kleurbindingstegniek, gebaseer op die werk van Fraenkel-Conrat & Cooper (1944), het die potensiaal om as evalueringstegniek vir proteïenkwaliteit en aminosuurbeskikbaarheid gebruik te word. Die tegniek berus op die beginsel dat die kleurstof met die reaktiewe groep van die basiese aminosure reageer. Empiriese waarde van die proteïen se sg. 'basiese aminosuurinhoud' word derhalwe met die meting verkry. Die kleurbindingstegniek is in die verlede suksesvol gebruik om 'n skattung van sekere produkte se proteïeninhoud te maak. So byvoorbeeld het Munck, Karlson & Hagberg (1969) in seleksieproewe met hoë-proteïen- en hoë-lisiengrane van die tegniek se waarde bewys gelewer.

Die tegniek is ook met vrug gebruik vir die bepaling van die proteïeninhoud van koring (Udy, 1956), melkprodukte (Sherbon & Luke, 1969; Sherbon, 1970; Park & King, 1974; Sherbon & Fleming, 1975), sesaammeel (Goh & Clandinin, 1978), raapsaad (Medina, Kleyn & Swallow, 1976) en vismeel (Bunyan & Price, 1960). Chiappelli, Vasil & Haggerty (1979) het gevind dat die kleurbindingstegniek ook uiters geskik was om die proteïeninhoud van selfs komplekse proteïenmengsels te bepaal.

Hierbenewens het die tegniek 'n aanwendingsmoontlikheid getoon as maatstaf van proteïenkwaliteit. Hurrell & Carpenter (1975) het bewys gelewer dat hittebeskadiging van lisien a.g.v. foutiewe prosesseringstoestande, weerspieël word in die verlaging van die proteïen se kleurbindingsvermoë. Olomucki & Bornstein (1960) het gevind dat die kleurbindingstegniek met sukses aangewend kan word om die kwaliteit van geprosesseerde sojabooneel te kwantifiseer.

Die kleurbindingskapasiteitstegniek, is ook deur Kroger & Weaver (1979) as 'n beter maatstaf beskou om die ouderdom van kaas te bepaal, as die sg. vrye aminosuurkonsentrasie van hierdie produk. Carpenter & Opstvedt (1976) het, met behulp van die kleurbindingstegniek, belowende resultate verkry by die evaluering van vismele wat aan verskillende prosesseringstoestande onderwerp is.

In Suid-Afrika bestaan daar tans by die vervaardigers sowel as die verbruikers van geprosesseerde veevoedselkomponente 'n behoeftie aan metodes vir die kwantifisering van die kwaliteit van produkte. Die geskikte prosedure moet sensitief genoeg wees om kwaliteitsverskille aan te dui wat deur prosesseringstoestande veroorsaak word.

Hierdie studie is met vismele uitgevoer met die doel om: die herhaalbaarheid van die kleurbindingstegniek *per se* na te gaan; vas te stel of die kleurbindingstegniek as maatstaf van vismele se proteïeninhoud gebruik kan word; die waarde van die kleurbindingstegniek as kwaliteitsmaatstaf te bepaal,

deur die kleurbindingswaarde met die FDNB-reaktiewe lisienkonsentrasie, asook die opneembaarheid van lisien en die proteïendoeltreffendheidsverhouding van die vismele te vergelyk.

## Materiaal en Prosedure

### Proefmateriaal

Die herhaalbaarheid van die kleurbindingreaksie is bepaal deur drie ewekansigkose vismele t.o.v. kleurbindingskapasiteit- en kleurbindingslisienwaardes te ondersoek. Ses herhalings is op 'n bepaalde dag en ses herhalings is oor die verloop van twee weke op elk van die vismele uitgevoer.

Volgens die prosedure soos deur Smith (1980) uiteengesit, is die kleurbindingskapasiteit- en lisientegnieke as maatstawwe van proteïeninhoud en aminosuurbeskikbaarheid geëvalueer, deur 23 monsters Kaapse- en 12 monsters Suidwes vismele te versamel. Die vismele is t.o.v. proteïen- en aminosuurinhoud, FDNB-reaktiewe lisien, lisienopneembaarheid, kleurbindingskapasiteit en kleurbindingslisienwaardes ondersoek. Vervolgends is die kleurbindingswaardes en proteïendoeltreffendheidsverbindings van vismele met mekaar vergelyk. As toetsmonsters is fraksies van 'n vismeel, wat aan 'n toenemende mate van aminosuurbeskadiging onderwerp is, gebruik. Variasie in die graad van beschadiging, is bewerkstellig deur vismeel en reduserende suikers in verskillende verhoudings met mekaar te vermeng en dié mengsels dan aan hitte bloot te stel. Die volgende vier monsters is vir dié doel voorberei: Vismeel in die natuurlike vorm; Vismeel verhit by 100°C vir 24 uur; Vismeel plus 3% glukose verhit by 100°C vir 24 uur; Vismeel plus 7% glukose verhit by 100°C vir 24 uur.

### Proefprosedure

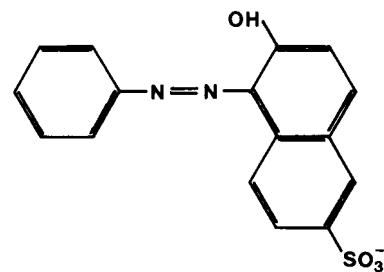
Proteïnbepalings ( $N \times 6,25$ ) is volgens die standaard Kjeldahlprosedure (AOAC, 1980) uitgevoer.

Die basiese aminosure en FDNB-reaktiewe lisienkonsentrasies is bepaal volgens die prosedure wat deur Smith (1980) uiteengesit is. Dit het in hoofsaak met die metode van Carpenter & Booth (1973) en Blackburn (1978) ooreengestem. Na afloop van die reaksie in 'n Reactor 14917, is die kleurbindingswaardes met behulp van 'n Prometer MK II bepaal. Dié apparaat word deur Foss Electric vervaardig en in die Republiek deur Rhine Ruhr bemark. Die reaksiemengsel word met behulp van die Prometer, onder 'n konstante druk van 15 mbar. cm<sup>-2</sup>, deur silikageweekte papier gefiltreer, waarna die transmissie van die filtraat in 'n 0,4-mm-fotosel, by 475 nm gelees word. Die kleurbindingswaarde, uitgedruk in mmol kleurstof gebind per liter, word direk op die Prometer afgelees.

In die huidige studie is suur Oranje-12 (1-fenielazo-2-naftal-6-sulfoon) as kleurstof gebruik (Figuur 1). Aangesien die verbinding slegs een reaktiewe groep het, is dit minder onderhewig aan fisiese steurnisse tydens die vorming van die kleurstofproteïenkompleks. Hierbenewens is die lae waterabsorpsievermoë van suur Oranje-12, die gemak waarmee dit gesuiwer kan word, sowel as die feit dat dit minder gevoelig is vir lig as ander kleurstowwe, besliste voordele vir die gebruik daarvan in kleurbindingstudies (Udy, 1971). Die kleurstof wat in die handel beskikbaar is, bevat 3,89 mmol.l<sup>-1</sup> suur Oranje-12 as 'n natriumsout, 200 g gedehidreerde oksaalsuur, 34,0 g kalsiumwaterstoffosfaat en 750 cm<sup>3</sup> 80%-ysasynsuur en die finale volume, wat tot presies 10 kg met vars gedistilleerde water opgemaak word. Die reaksie tussen die kleurstof en die proteïen word bewerkstellig deur noukeurig-afgeweegde monsters by 'n konstante temperatuur van 20°C vir 10 minute met 40 cm<sup>3</sup> kleurstof (Madsen, 1973) in die Reactor 14917

te plaas. Die monstermassa word, volgens die skedule van Madsen (1973) aangepas tot 'n vlak wat verseker dat die Prometerlesing hoér is as 'n kleurstofbinding van 2,0 mmol.l<sup>-1</sup>. Hierdeur word verseker dat die onderdrukkende invloed wat 'n oormaat kleurstof op die reaksie mag uitoefen, uitgeskakel word (Hurrell, Lerman & Carpenter, 1979).

Die proteïendoeltreffendheidsverhouding (PER) van die vismele is bepaal volgens die prosedure wat deur die AOAC (1980) gepubliseer is, terwyl die opneembaarheid van lisien met behulp van rotte, volgens die prosedure van Eggum (1973) vasgestel is.



Figuur 1 1-Fenielazo-2-naftal-6-sulfoon (Hurrell & Carpenter, 1975)

## Resultate en Bespreking

### Herhaalbaarheid en kleurbindingreaksie

Volgens die resultate wat m.b.v. replikaatbepalings op die drie vismeelmonsters (Tabel 1) verkry is, blyk dit dat, indien duplikaatmonsters van 'n vismeel op 'n spesifieke dag ontleed word, 'n 5%-verskil in kleurbindingskapasiteit met 95% sekerheid aangedui kan word. Wanneer die tegniek vir kwaliteitskontrole aangewend word om op 'n spesifieke dag beheer oor die produksieproses uit te oefen, is duplikaatontledings dus voldoende. Hierdie bevinding is in ooreenstemming met die resultate van Hurrell & Carpenter (1976) wat ook die herhaalbaarheid van die prosedure ondersoek het. Waar die bepalings oor die loop van 'n aantal weke uitgevoer is, is 'n hoér koëffisiënt van variasie verkry wat meegebring het dat vier bepalings nodig was om 'n verskil van 5% met 'n 95% sekerheid te kan aantoon.

In soverre dit kleurbindingslisien betrek, is gevind dat 'n koëffisiënt van variasie van 3,72% verkry word, waar opeenvolgende waarnemings op 'n bepaalde dag uitgevoer is. Dit bring mee dat vyf bepalings uitgevoer moet word, om 'n verskil van 5% in kleurbindingslisien met 'n 95% sekerheid vas te stel. Hierdie hoér variasie word toegeskryf aan die bydrae wat die variasies in die propionerings- sowel as die kleurbindingreaksie tot die totale variasie lewer.

Die gemak en spoed waarmee die tegniek uitgevoer kan word en die lae koste van 'n bepaling, hou groot voordele in vir die bedryf. In vergelyking met ander kwaliteitsmaatstawwe, het sy chemies of biologies van aard, is die tyd en koste wat vir die uitvoering van die kleurbindingprosedure vereis word, minimaal.

**Kleurbindingskapasiteit as maatstaf van proteïeninhoud**  
Betekenisvolle ( $P < 0,01$ ) korrelasiekoeffisiënte van 0,697 en 0,542 is onderskeidelik vir Kaapse- en Suidwes vismele tussen die proteïeninhoud en kleurbindingskapasiteitwaardes waargeneem. In die geval waar die oorsprong van die vismele nie in aanmerking geneem is nie, is 'n korrelasiekoeffisiënt van slegs 0,466 waarneem. Hoewel die verwantskap nog statisties betekenisvol ( $P < 0,01$ ) was, is die korrelasie egter te laag om

**Tabel 1** Aantal ontledings wat benodig word om 'n betroubare aanduiding van die kleurbindingskapasiteit en -lisenkonsentrasie van vismeel te verkry

| Item                            | Variasiekoeffisiënt % |                                     | Aantal waarnemings benodig om 5%-verskille aan te toon by |                                     |                      |                                     |
|---------------------------------|-----------------------|-------------------------------------|---|-------------------------------------|----------------------|-------------------------------------|
|                                 |                       |                                     | P < 0,05  |                                     | P < 0,01             |                                     |
|                                 | Bepalings op een dag  | Bepalings oor verloop van twee weke | Bepalings op een dag                                      | Bepalings oor verloop van twee weke | Bepalings op een dag | Bepalings oor verloop van twee weke |
| Kleurbindingskapasiteitsreaksie | 1,413                 | 2,767                               | 1,03  | 3,90                                | 1,92                 | 7,47                                |
| Kleurbindingslisienreaksie      | 3,725                 | 5,806                               | 4,54  | 9,93                                | 8,42                 | 19,00                               |

in die praktyk van nut te wees.

Die feit dat Suidwes vismele bykans dieselfde proteïeninhoud as Kaapse mele gehad het (Tabel 2) en dat dit ten spye daarvan, laer kleurbindingskapasiteitswaardes opgelewer het, dui waarskynlik daarop dat reaktiewe groepe in die Suidwes mele nie volledig met die kleurstof gereageer het nie. Die rede hiervoor mag wees dat die proteïen beskadiging ondergaan het, wat die reaktiewe  $\epsilon$ -aminogroep van lisien geïnaktiviseer het. Weens die lae konsentrasie reduserende suikers in vismeel, kan verwag word dat hittebeskadiging die vorming van isopeptiedkruisbindings tot gevolg mag hê. Die kruisbindings vorm weens die kondensasie van die  $\epsilon\text{-NH}_2$ -groep van lisien en die amiedgroepe van glutamien en asparagien (Bjarnason & Carpenter, 1970). Die lisien in die kondensasieprodukte is gevoldlik nie reaktief nie. Hoewel histidien en arginien as sulks met ander proteïengroepe mag reageer, is dit meer waarskynlik dat 'n netwerk van naasliggende kruisbindings verhinder dat die kleurstof tot al die potensiel-reaktiewe groepe deurdring (Hurrell & Carpenter, 1975). 'n Bewys dat kruisbinding wel die reaksie beïnvloed is deur Fraenkel-Conrat & Cooper (1944) gelewer. Hierdie werkers het gevind dat die kleurbindingsreaksie langer neem om ekwilibrium, met byvoorbeeld wolproteïen, te bereik, waarin 'n hoë mate van kruisbinding voorkom, as met ander minder-komplekse proteïene. Dit kan dus verwag word dat, waar 'n proteïen aan beskadiging onderwerp is en kondensasieprodukte en kruisbindings gevorm het, die kleurbindingswaarde sal neig om die basiese aminosuurinhoud te onderskat.

Benewens die invloed van die bogenoemde reaksieprodukte op die kleurbindingskapasiteit, bestaan die moontlikheid dat die verhouding van die basiese aminosure by Kaapse- en

Suidwes vismele onderling verskil. Dit mag wees a.g.v. 'n verskil in samestelling en/of die selektiewe beskadiging van aminosure tydens prosessering. Del Cueto, Martinez & Frampton (1960) het trouens bewys dat selektiewe beskadiging van die basiese aminosure tydens hitteblootstelling plaasvind. Outoklaving van dwerg-ertjies (*Cicer arietinum*) het byvoorbeeld 'n verlaging van 10% in die lisienkonsentrasie tot gevolg gehad, sonder dat die arginien- of histidienkonsentrasies beïnvloed is. Die resultate van die huidige ondersoek bevestig die vermoede dat daar wel 'n verskil in die verhouding van die basiese aminosure tussen die vismele bestaan. Waar daar in die geval van die Kaapse vismele 'n betekenisvolle ( $P < 0,01$ ) verwantskap van 0,708 tussen die lisienkonsentrasie en die histidien- plus-arginienkonsentrasie was, was die korrelasiekoeffisiënt in die geval van die Suidwes vismele onbeduidend laag (0,178). Die verandering in die verhouding van die basiese aminosure mag dus daartoe bygedra het dat die kleurbindingswaarde nie in staat was om die proteïeninhoud akkuraat te voorspel nie. In 'n ondersoek wat vergelykbaar was met die huidige studie, het Heller & Sherbon (1976) gevind dat 'n verandering in die verhouding van die basiese aminosure, die betrouwbaarheid van die kleurbindingswaarde as maatstaf van die proteïenkonsentrasie beïnvloed. Gesien teen dié agtergrond, mag dit wees dat die Suidwes vismele aan 'n groter mate van beskadiging onderwerp was as die Kaapse vismele.

'n Verandering in die relatiewe verhouding van die aminosure, mag egter ook teweeggebring word deurdat die vismele uit verskillende visspesies en wisselende hoeveelheid inmaakafval en heelvis saamgestel word. Pence, Weinstein & Mecham (1954) en Udy (1956) het daarop gewys dat 'n wisseling in die konsentrasie van die basiese aminosure die kleurbindingsreaksie beïnvloed. Klotz, Darnall & Langerman (1975) en Andersen, Iversen, Skagen & Elsayed (1978) se resultate het daarop gedui dat die reaksie tussen die kleurstof en die proteïen na gelang van die strukturele eienskappe van die proteïen geskied. Die laer kleurbindingswaarde van die Suidwes vismele kan dus nie sondermeer aan 'n laer proteïenkonsentrasie van die materiaal toegeskryf word nie.

**Tabel 2** Die gemiddelde proteïen-, totale basiese aminosuur- en kleurbindingskapasiteitswaardes

| Oorsprong         | Droëmateriaal % | Proteïen % | T.B.A.A. <sup>a</sup><br>mmol.100 g <sup>-1</sup> monster | KBK. <sup>b</sup><br>mmol.100 g <sup>-1</sup> monster |
|-------------------|-----------------|------------|---|---|
| Kaapse vismele    |                 |            |   |   |
| Gemiddeld         | 90,24           | 72,43      | 75,58   | 72,91   |
| Standaardafwyking | $\pm 2,39$      | $\pm 3,76$ | $\pm 5,83$  | $\pm 7,48$  |
| Suidwes vismele   |                 |            |   |   |
| Gemiddeld         | 91,24           | 74,67      | 78,13   | 66,83   |
| Standaardafwyking | $\pm 2,64$      | $\pm 2,85$ | $\pm 3,44$  | $\pm 4,55$  |

<sup>a</sup>T.B.A.A.: Totale basiese aminosure chromatografies bepaal

<sup>b</sup>KBK.: Kleurbindingskapasiteit

#### Kleurbindingskapasiteit as maatstaf van FDNB-reaktiewe lisienkonsentrasie

'n Hoogs betekenisvolle ( $P < 0,01$ ) verwantskap (0,681) is in hierdie studie tussen die kleurbindingskapasiteit en die FDNB-reaktiewe lisienkonsentrasie verkry. Geen onderskeid is in dié geval getref t.o.v. die monsters se oorsprong nie. Waar slegs die Kaapse vismele vir evaluering gebruik is, is 'n hoogs betekenisvolle ( $P < 0,01$ ) korrelasie van 0,828 tussen die twee parameters verkry. Die hoë verwantskap is in ooreenstemming met die bevindings van Jorgensen, Jacobsen, Schmidtsdorff & Christensen (1973) asook met dié van Carpenter & Opstvedt (1976), wat op grond van soortgelyke studies verwantskappe

**Tabel 3** Variasie in totale-, reaktiewe- en kleurbindingslisienwaardes van vismele

| Item                | Aantal monsters | Variatie-breedte | Gemiddeld ± standaard afwyking | Variasie-koëffisiënt |
|---------------------|-----------------|------------------|--------------------------------|----------------------|
| Totale lisien       |                 |                  |                                |                      |
| Kaapse vismele      | 23              | 6,31 – 4,73      | 5,826 ± 0,442                  | 7,60                 |
| Suidwes vismele     | 12              | 6,35 – 5,13      | 5,889 ± 0,336                  | 5,72                 |
| Reaktiewe lisien    |                 |                  |                                |                      |
| Kaapse vismele      | 23              | 6,08 – 4,20      | 5,477 ± 0,495                  | 9,04 <sup>a</sup>    |
| Suidwes vismele     | 12              | 4,28 – 3,43      | 3,775 ± 0,271                  | 7,19 <sup>a</sup>    |
| Kleurbindingslisien |                 |                  |                                |                      |
| Kaapse vismele      | 23              | 6,80 – 3,92      | 5,614 ± 0,762                  | 13,57 <sup>a</sup>   |
| Suidwes vismele     | 12              | 5,49 – 4,05      | 4,832 ± 0,488                  | 10,09 <sup>a</sup>   |

<sup>a</sup>Verskil betekenisvol by  $P = 0,01$

van onderskeidelik 0,841 en 0,944 gerapporteer het. In Suid-Afrika het Sandler (1973) in 'n studie met vismele waarvan die oorsprong nie gemeld is nie, 'n verwantskap van 0,859 tussen die kleurbindingskapasiteitswaarde en die FDNB-reaktiewe lisienresultate gevind.

#### Kleurbindingslisien as maatstaf van FDNB-reaktiewe lisienkonsentrasie

Volgens die gegewens in Tabel 3 was daar geen betekenisvolle verskil in die totale lisienkonsentrasie van die vismele wat in die Kaap en dié wat in Suidwes geproduseer is nie. Hierteenoor is gevind dat die FDNB-reaktiewe lisienkonsentrasie van die Suidwes vismele (3,77%) 31% laer was as die waardes van 5,47% wat vir die Kaapse vismele verkry is. Hierdie betekenisvolle ( $P < 0,01$ ) verskil in die reaktiwiteit van die lisien, versterk die vermoede dat die Suidwes vismele aan 'n hoë mate van beskadiging onderwerp is as die Kaapse vismele. 'n Sodanige beskadiging is nie in die totale lisienwaarde, wat na suurhidrolise chromatografies verkry is, weerspieël nie. Dié bevinding bevestig weer eens die feit dat die chromatografies-bepaalde lisienwaardes nie 'n betroubare maatstaf van 'n aminosuur se bio-beskikbaarheid is nie. Hoewel die lisienmolekules teenwoordig is, is dit waarskynlik in die vorm van 'n kompleks, soos bv. 'n proteïen-proteïen-kompleks, wat reaksie met FDNB verhinder.

'n Berekening van die verwantskap tussen FDNB-reaktiewe en kleurbindingslisien, het op 'n hoë betekenisvolle ( $P < 0,01$ ) korrelasie van 0,826 gedui, waar dié twee maatstawwe in die geval van vismele wat by die Kaapse fabrieke geproduseer is, met mekaar vergelyk is. In soverre dit die vismele vanaf Suidwes betrek, is 'n korrelasiokoëffisiënt van 0,734 verkry, wat hoewel laer, steeds hoë betekenisvol ( $P < 0,01$ ) is. Hoewel 'n mens graag 'n hoë verwantskap sou wou sien, kan 'n vervaardiger die kwaliteit van sy produksie-insette met behulp van die kleurbindingslisienwaarde monitor, aangesien verwag kan word dat die produk minder aan verskille in samestelling onderhewig sal wees, as produkte wat van verskilende fabrieke afkomstig is.

#### Kleurbindinglisien as maatstaf van lisienabsorpsie

Bio-beskikbaarheid of dan te wel die absorpsie van aminosure, is 'n voorvereiste vir die biologiese benutting van 'n aminosuur. Die bepaling van die aminosure se absorpsie met behulp van proefdiere, is egter duur en tydrowend. Gevolglik sal dit van groot nut wees indien 'n betekenisvolle verwantskap tussen die resultate van 'n tegniek soos die kleurbindingslisienprosedure

en die bio-beskikbaarheid van die aminosuur, gedemonstreer sou kon word.

Die resultate van hierdie studie toon dat daar in die geval van die Kaapse vismele, 'n hoë betekenisvolle ( $P < 0,01$ ) verwantskap van 0,903 tussen die bio-beskikbaarheid van lisien en die kleurbindingslisienwaardes was. In die geval van die Suidwes vismele was dié verwantskap egter nie betekenisvol nie. Oor die rede hiervoor kan slegs bespiegel word. Dit mag egter wees a.g.v. die feit dat slegs die ongeabsorbeerde lisien wat in die faeces van die rotte verskyn, in die verteringstudies in aanmerking geneem word. Lisien wat in 'n kompleksvorm geabsorbeer, maar dan onbenut uitgeskei word, word egter in dié geval buite rekening gelaat. Daar is aanduidings uit die literatuur (Bjarnason & Carpenter, 1969) wat, veral in die geval van Suidwes vismele waar die FDNB-reaktiewe lisien soveel laer as die totale lisien was, kan geld, dat lisienkomplekse geabsorbeer word. Omdat die lisienkomplekse nie gemetaboliseer kan word nie, word die kompleks in die urine uitgeskei. Ongepubliseerde data (Hayes, 1980) het byvoorbeeld aangegetoon dat die lisienkonsentrasie in die urine van hane wat hittebeskadigde vismeel ontvang het, twee keer hoër was as by voëls wat onbehandelde vismeel gekry het. Die presiese aard van die lisienkomplekse in die urine is nie bekend nie, maar indien sulke komplekse in aanmerking geneem word, mag gevind word dat dit 'n betekenisvolle bydrae tot die bio-beskikbare lisienwaarde lewer.

#### Kleurbindingslisien as maatstaf van proteïenbenutting

Die resultate van die studie waarin die verwantskap tussen die kleurbindingslisien en proteïendoeltreffendheidsverhouding ondersoek is, het op 'n hoë betekenisvolle korrelasie

**Tabel 4** Proteïendoeltreffendheidsverhouding en kleurbindingslisienwaardes van Maillard-tipe beskadigde vismele

| Behandeling  | Proteïendoeltreffendheids-verhouding | Kleurbindingslisienwaardes (%) |
|--|--------------------------------------|--------------------------------|
| Vismeel in natuurlike vorm                         | 2,55                                 | 5,22                           |
| Vismeel verhit by 100°C vir 24 uur                 | 2,23                                 | 4,63                           |
| Vismeel plus 3% glukose by 100°C vir 24 uur        | 1,47                                 | 4,21                           |
| Vismeel plus 7% glukose verhit by 100°C vir 24 uur | 0,80                                 | 3,54                           |

van 0,988 tussen hierdie twee maatstawwe gedui. Uit hierdie werk is dit duidelik dat kleurbindingsslisen 'n betroubare maatstaf vir die evaluering van vismle is, in gevalle waar lisien, weens toenemende beskadiging vanweë die Maillard-reaksie, ontoeganklik gemaak is (Tabel 4). Tydens Maillard-beskadiging vind 'n reaksie tussen die hidroksielgroepe van die reduserende suikers, in die geval glukose en die reaktiewe  $\epsilon$ -NH<sub>2</sub>-groepe van lisien plaas (Greenwood & Munro, 1979). Die reaksie het tot gevolg dat die betrokke lisienmolekules hul reaktiwiteit verloor en dus nie meer vir biologiese benutting beskikbaar is nie. Die invloed van hierdie reaksie op die benutbaarheid van die proteïen sal gereflekteer word in 'n biologiese maatstaf soos die proteïendoeltreffendheidsverhouding.

### Gevolgtrekking

Die resultate van hierdie ondersoek dui daarop dat die kleurbindingstegniek besliste moontlikhede bied as metode om die proteïenkwaliteit van vismeel te beraam. Betekenisvolle verwantskappe is waargeneem tussen die kleurbindingsslisenwaarde en die chemiesreaktiewe lisieninhoud, sowel as die biologiese kwaliteitsparameters, lisien-biobeskikbaarheid en proteïendoeltreffendheidsverhouding. Indien sorg gedra word dat die tegniek korrek uitgevoer word, het die kleurbindingstegniek besliste toepassingsmoontlikhede in kontinue kwaliteitskontrole by vismeelbenutting.

### Erkenning

Die voortreflike wyse waarop mev Maria Bender en Annette Steenkamp onderskeidelik die biologiese en chemiese analises uitgevoer en mev Karin de Beer die finale manuskrip versorg het, word met groot waardering erken.

### Summary

South African fish-meals differing in origin, composition and conditions of processing were evaluated for protein content, dye-binding capacity, dye-binding lysine, fluorodinitrobenzene-reactive lysine (FDNB), protein efficiency ratio (PER) and rat bio-available lysine values. It was established that when duplicate samples of fish meals were analysed on a specific day, differences of 5% in dye-binding capacity could be determined with a 95% degree of confidence. In order to obtain the same degree of accuracy, four determinations per sample were necessary when analyses were performed over a period of 2 weeks. Owing to a larger variation ( $cv = 3,72\%$ ), dye-binding lysine determinations required five analyses per sample when analysed on the same day. Compared with other chemical and biological parameters of protein quality, the ease with which dye-binding analyses could be performed and the relative low cost of these analyses warrented their use in industry. A high degree of correlation ( $r = 0,988$ ) was found between dye-binding lysine and PER values as well as between dye-binding lysine and bio-available lysine values ( $r = 0,903$ ). It is concluded that the dye-binding lysine technique could serve as a quality control measure at the processing plants in the fish-meal industry.

### Verwysings

- ANDERSON, K., IVERSEN, B.M., SKAGEN, D.W. & ELSAYED, S., 1978. An approach for the quantitation of serum albumin utilizing the principle of protein dye-binding. *Anal. Biochem.* 89, 481.
- AOAC, 1980. Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists, 13th ed. Ed. Horwitz, W. Washington.
- BJARNASON, J. & CARPENTER, K.J., 1969. Mechanisms of heat damage in proteins. 1. Models with acylated lysine units. *Br. J. Nutr.* 23, 859.
- BJARNASON, J. & CARPENTER, K.J., 1970. Mechanisms of heat damage in proteins. 2. Chemical changes in pure proteins. *Br. J. Nutr.* 24, 313.
- BLACKBURN, S., 1978. Amino acid determination. Methods and techniques. Marcel Dekker Inc., New York.
- BUNYAN, J. & PRICE, S.A., 1960. Studies on protein concentrates for animal feeding. *J. Sci. Fd Agric.* 11, 25.
- CARPENTER, K.J. & BOOTH, V.H., 1973. Damage of lysine in food processing: Its measurement and its significance. *Nutr. Abstr. Rev.* 43, 423.
- CARPENTER, K.J. & OPSTVEDT, J., 1976. Application of chemical and biological assay procedures for lysine to fish meal. *J. agric. Fd Chem.* 24, 2, 389.
- CHIAPELLI, F., VASIL, A. & HAGGERTY, D.F., 1979. The protein concentration of crude cell and tissue extracts as estimated by the method of dye-binding: Comparison with the Lowry method. *Anal. Biochem.* 94, 160.
- DEL CUETO, A.G., MARTINEZ, W.H. & FRAMPTON, V.L., 1960. Effect of autoclaving on the basic amino acids and proteins of the chick pea. *J. agric. Fd Chem.* 8, 331.
- EGGUM, B.O., 1973. A study of certain factors influencing protein utilization in rats and pigs, Ph.D-thesis, Copenhagen.
- FRAENKEL-CONRAT, H. & COOPER, M., 1944. The use of dyes for the determination of acid and basic groups in proteins. *J. biol. Chem.* 154, 239.
- GOH, Y.K. & CLANDININ, D.R., 1978. The estimation of crude protein in rapeseed meal by a dye-binding method. *Can. J. Anim. Sci.* 58, 97.
- GREENWOOD, C.T. & MUNRO, D.N., 1979. Carbohydrates. In: Effects of heating on foodstuffs. Ed. Priestley, R.J., Applied Science Publishers, London.
- HELLER, S.N. & SHERBON, J.W., 1976. Interlaboratory study of acid orange 12 dye-binding for measuring protein in meat. *JAOAC* 59, 62.
- HURRELL, R.F. & CARPENTER, K.J., 1975. The use of three dye-binding procedures for the assessment of heat damage to food proteins. *Br. J. Nutr.* 33, 101.
- HURRELL, R.F. & CARPENTER, K.J., 1976. Preliminary method for dye-binding lysine. *Proc. Nutr. Soc.* 35, 24 A.
- HURRELL, R.F., LERMAN, P. & CARPENTER, K.J., 1979. Reactive lysine in foodstuffs as measured by a rapid dye-binding procedure. *J. Fd Sci.* 44, 4.
- JORGENSEN, A.H., JACOBSEN, E.E., SCHMIDTSORFF, W. & CHRISTENSEN, H., 1973. Evaluation of the dye-binding method as a tool for practical check of fish meal quality. Presented at the IAFMM Fishmeal Conference in Venice.
- KLOTZ, I.M., DARNALL, D.W. & LANGERMAN, N.R., 1975. Quaternary structure of proteins. In: The Proteins, Eds. Neuroth, H. & Hill, R.L., Academic Press, London.
- KROGER, M. & WEAVER, J.C., 1979. A research note. Use of protein dye-binding values as indicators of the "chemical age" of conventionally made cheddar cheese and hydrolyzed-lactose cheddar cheese. *J. Fd Sci.* 44, 304.
- MADSEN, K., 1973. Lysine-Determination: The DBL-Method. A/S N. Foss Electric.
- MEDINA, M.B., KLEYN, D.H. & SWALLOW, W.H., 1976. Protein estimation in sesame seed and rapeseed flours and meals by a modified Udy dye-binding method. *J. Am. Oil. Chem. Soc.* 53, 555.
- MUNCK, L., KARLSON, K.E. & HAGBERG, A., 1969. In: Second International Barley Genetics Symposium, pp. 544–558. Washington State University, Pullman, Washington.
- OLOMUCKI, E. & BORNSTEIN, S., 1960. The dye adsorption test for the evaluation of soybean meal quality. *JAOAC* 43, 440.
- PARK, D.L. & KING, R.L., 1974. Evaluation of automated dye-binding determination of protein in milk. *JAOAC* 57, 1, 42.
- PENCE, J.W., WEINSTEIN, N.E. & MECHAM, D.K., 1954. The albumin and globulin contents of wheat flour and their relationship to protein quality. *Cereal Chem.* 31, 303.
- SANDLER, L., 1973. Dye-binding (II). 27ste Jaarverslag van die Direkteur, Visnywerheid N. Inst., Univ. Kaapstad.

- SHERBON, J.W., 1970. Dye-binding method for protein content of dairy products. *JAOAC* 53, 863.
- SHERBON, J.W. & FLEMING, R., 1975. Comparison of two formulations of Acid Orange 12 of the determination of protein in milk. *JAOAC* 58, 773.
- SHERBON, J.W. & LUKE, H.A., 1969. Comparison of the dye-binding and kjeldahl methods for protein analysis of non fat dry milk and ice-cream. *JAOAC* 52, 138.
- SMITH, G.A., 1980. 'n Studie van die proteïenkwaliteit in vismeel en sonneblomoliekoekmeel met verwysing na die betroubaarheid van spesifieke chemiese en biologiese kwaliteitsparameters. Ph.D.-tesis. Universiteit van Stellenbosch.
- UDY, D.C., 1956. Estimation of protein in wheat and flour by Ion-binding. *Cereal Chem.* 33, 190.
- UDY, D.C., 1971. Improved dye method for estimating protein. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 48, 29A.