

ЕВРОПЕЙСКИЙ КОНГРЕСС РАБОТНИКОВ  
И И МЯСНОЙ ПРОМЫШЛЕННОСТИ

th EUROPEAN CONGRESS  
OF MEAT RESEARCH INSTITUTES

ter EUROPÄISCHER KONGREG  
DER FLEISCHFORSCHUNGSINSTITUTE

ème CONGRES EUROPEEN  
DES INSTITUTS DE RECHERCHES  
SUR LES VIANDES

К. Кржувичкий и И. Висмер-Педерсен

*Кржувичкий и И. Висмер-Педерсен*

НЕКОТОРЫЕ СВОЙСТВА БЕЛКОВ  
САРКОПЛАЗМЫ НОРМАЛЬНОЙ И ВОДЯНИСТОЙ  
СВИНОЙ МЫШЕЧНОЙ ТКАНИ

№

115  
13

МОСКВА 1962 г.

# НЕКОТОРЫЕ СВОЙСТВА БЕЛКОВ САРКОПЛАЗМЫ НОРМАЛЬНОЙ И ВОДЯНИСТОЙ СВИНОЙ МЫ- ШЕЧНОЙ ТКАНИ

К.Кржувичкий и И.Висмер-Педерсен

Датский научно-исследовательский  
мясной институт. Дания

За последние годы в литературе появилось несколько сообщений относительно плохой влагопоглощаемости бледного свиного мяса (Людвигсен 1954 ., Висмер - Педерсен 1959 г., Бриски и др. 1959 г., Лори 1960 г., и другие). Различная степень плохой влагопоглощаемости связана со скоростью уменьшения величины рН в течение первых 24 часов после убоя (Бриски и Висмер-Педерсен 1961 г.). Бендалл и Висмер-Педерсен изучали зависимость изменений свойств фибриллярных белков от снижения влагопоглощаемости. Они пришли к выводу, что основной фибриллярный белок-актомиозин находится в нативной форме, но он покрыт слоем денатурированного белка саркоплазмы, который связан с актомиозином достаточно сильно и делает его устойчивым к экстракции при высокой ионной силе и к гидратации - при низкой. Пользуясь тем же экспериментальным материалом, что Бендалл и Висмер-Педерсен, мы исследовали зависимость концентрации различных фракций белков саркоплазмы от величины рН<sub>1</sub>. рН<sub>1</sub> означает величину рН мышцы через 45 мин. после убоя. Небольшая величина рН<sub>1</sub> указывает на быстрое уменьшение величины рН. На основании результатов, полученных этими авторами, мы обнаружили заметное

уменьшение концентрации экстрагируемых белков саркоплазмы мяса с небольшими величинами  $pH_1$ . Далее мы заметили, что когда величина  $pH_1$  мясных проб находилась в пределах 6,3 - 6,4, концентрация экстрагируемых белков была максимальной, а при более высоких величинах  $pH_1$  она снижалась.

#### Экспериментальный материал и методы

Экспериментальный материал. Экспериментальным материалом служили образцы мышцы *longissimus dorsi*, вырезанные из поясничной части туш через 24 часа после убоя. Свиньи были датской Ландрасской породы; их вырастили на опытной станции по разведению новых пород "Сиелланд" (Sjælland). Убой, которому предшествовало электрооглушение, произвели на Роскильдском беконном заводе. Величину  $pH$  измеряли через 45 мин. ( $pH_1$ ) и через 24 часа после убоя.

Экстрагирование и электрофорез белков саркоплазмы. Примерно 3 г измельченного мяса (фарша) гомогенизировали в течение 10 сек. в 6 мл фосфатного буфера ( $pH = 7,4$ ;  $I = 0,15$ ) при помощи мешалки "Ультра Тарракс" (Ultra Tarrax) и затем оставили при температуре  $2-4^{\circ}$ . Через 30 мин. гомогенат центрифугировали в течение 20 мин. со скоростью 1500 об/мин. 10 мкл всплывшего на поверхность вещества осторожно перенесли на линию, начерченную на фильтровальной ватманской бумаге № 1 длиной 35 см и шириной 5 см. Затем эту полоску бумаги поместили в прибор для электрофореза EEL, содержащий глицинфосфатный буфер ( $pH = 8,6$ ;  $I = 0,1$ ). Электрофорез длился 17 час. Электрическое поле равнялось  $4,5$  в/см, а сила тока -  $6,4$  мА в начале и  $7,2 - 7,8$  мА в конце электрофореза. В нескольких опытах мы использовали верональный буфер, величина  $pH$  и ионная сила которого были такими же, как у глицинфосфатного буфера. Затем полоски окрасили амидо-черным красителем 10B. Плотность белковых фракций определяли при помощи денситометра EEL. Концентрацию фракций измерили в

квадратных сантиметрах окрашенной площади.

Общую концентрацию белка в плавающей жидкости определяли реактивом Фолина (Лори и др. 1951 г.). В пробирки, содержащие 3 мл растворов А и В в соотношении 50:1, добавили 10 мкл белкового раствора (раствор А: 20 г  $Na_2CO_3$  + 4 г  $NaOH$  в 1 л  $H_2O$ ; раствор В: 0,5 г  $CuSO_4$ , 5  $H_2O$  + 1 г  $Na$ -тартрата в 100 мл  $H_2O$ ). В каждую пробирку добавили по 0,25 мл реактива Фолина, разбавленного водой в соотношении 1:2. Через 30 мин. спектрофотометром Цейса измерили интенсивность цвета (длина волны равнялась 750 мкм).

Опыты с нагреванием. Чтобы искусственно получить изменения в экстрагируемом белке саркоплазмы, пробы измельченного мяса с  $pH_1 = 6,3-6,4$  нагревали при 37-38° в течение 90 мин., после того как добились различных величин pH. В каждой пробирке находилось 5 г измельченного мяса; соответствующее количество  $KOH$ , чтобы получить желаемую величину pH; 1 мл 0,1 N  $CaH_2PO_4$ , чтобы предотвратить гликолиз; и раствор 0,1 N  $KCl$ , чтобы общий объем был равен 20 мл.

Концентрацию белка в плавающем веществе определяли после охлаждения и центрифугирования.

Результаты. В верхней части рис. 1 показаны электрофоретические полосы экстракта мясной пробы с  $pH_1 = 6,31$ . Белки экстракта разделены на четыре фракции (1-IV), из которых наибольшей является вторая, а наименьшей - четвертая (быстро движущаяся). В нижней части рисунка показан экстракт мясной пробы с  $pH_1 = 5,20$ . Разделение фракций можно отметить по значительному различию между верхней и нижней частями рисунка. На рис. 2 показана электрофоретическая схема, полученная по денситометру. При сравнении двух денситограмм видно, что проба мяса с низкой величиной  $pH_1$  имеет только три фракции и в меньшей концентрации. Четвертую фракцию на денситограмме не видно. Однако в других экстрактах мяса с низкой величиной  $pH_1$  она может появиться в

небольшой концентрации. В табл. 1 приведена концентрация отдельных фракций и общая концентрация экстрактов, выраженная через площадь денситограмм нескольких проб с различной величиной  $pH_1$ . Общая концентрация белков саркоплазмы, экстрагированных из мясных проб с  $pH_1$  менее 6,0, составляет примерно 73% соответствующей концентрации проб с  $pH_1$  выше 6,3. Различие между двумя видами мяса - статистическое, значительное при  $P < 0,001$ . Можно заметить, что пробы мяса с  $pH_1$  в пределах 6,3-6,4 обычно дают наибольшее количество экстрагируемого белка. Это показано на рис. 3. Мясо с большей величиной  $pH_1$  дает меньшее количество экстрагируемых белков саркоплазмы. Различие между величинами  $pH_1$  в пределах 6,3-6,4 и  $pH_1$  выше 6,4 статистическое, значительное при  $P = 0,05$ .

Когда сравнивают концентрацию экстрагированного белка саркоплазмы проб с  $pH_1$  ниже 6,0 и с  $pH_1$  в пределах 6,3-6,4, оказывается, что различия не пропорциональны концентрации фракций. На рис. 4 мы показали различие между средними величинами концентрации фракций для мяса с низким  $pH_1$  и для мяса с  $pH_1$ , равным 6,3 - 6,4, пропорциональное концентрации фракций для мяса с  $pH_1$  в пределах 6,3 - 6,4.

Мы видим, что пропорциональные различия уменьшаются от I к IУ фракции. Но соответствующие различия в концентрации фракций для мяса с  $pH_1$  выше 6,4 почти пропорциональны концентрации вышеуказанных фракций. Однако существует тенденция к большему уменьшению фракций II, III и IУ в противоположность фракции I, которая больше всего уменьшалась при низких величинах  $pH$ . Чтобы идентифицировать фракции, экстракты из проб мяса с  $pH_1$  6,3 - 6,4 диализировали против дистиллированной воды в целлюлозной оболочке в течение 24 часов при  $10^\circ$ . В этих условиях фракция глобулин Х саркоплазмы должна осаждаться (С.В.Перри 1956 г.). На рис. 5 сравниваются электрофореграммы с недиализированным (вверху) и диализированным

118

(внизу) экстрактом. Очевидно, что различие между фракциями затрагивает главным образом фракцию 1. Поэтому мы предполагаем, что фракция 1, в основном, состоит из глобулина X.

На рис. 6 показана концентрация экстрагированных белков саркоплазмы из мясных проб, нагретых до  $38^{\circ}$ , после того как величину рН довели до 5,64; 5,80; 6,01; 6,35; 6,50; 6,80 и 7,06. Мы видим, что зависимость между величиной рН и концентрацией белка саркоплазмы соответствует результатам, полученным при исследовании мясных проб с различной величиной рН<sub>1</sub>. Однако опыт с нагреванием до  $30^{\circ}$  показал, что практически разницы в концентрации белка из проб с различной величиной рН нет. Поэтому мы считаем, что уменьшение количества экстрагируемого белка саркоплазмы связано с явлениями тепловой и кислотной денатурации (этот же вывод был сделан Бендаллом и Висмером-Педерсенем).

#### Обсуждение результатов

Результаты свидетельствуют о том, что в мясе с небольшой величиной рН<sub>1</sub> меньше экстрагируемых белков саркоплазмы, чем в мясе с рН<sub>1</sub> 6,3 и выше, а также о том, что это связано с величиной рН и температурой. Эти наблюдения еще раз подтверждают наблюдения Бендалла и Висмера-Педерсена. Относительно того, какая из фракций саркоплазмы участвует в конденсации саркоплазмы до фибриллярных белков, результаты дают основание предположить, что таковой является главным образом глобулин X. Изоэлектрическая точка глобулина X находится около рН 5,5 (Якоб 1947 г.), т.е. она близка к изоэлектрической точке фибриллярных белков. Таким образом, при величине рН и температуре, которые дают водянистое мясо, коагуляция глобулина X, вероятно, включает конденсацию фибриллярных белков. Фракции 1 и 1У при описанной экстракции саркоплазмы несколько напоминают экстракцию, произведенную Якобом (1946 г.). Он определил,

что изоэлектрические точки фракций соответственно равны 5,50, 6,00, 6,20 и 6,75. Вследствие того что глицинфосфатный буфер может мешать подвижности фракций, неясно, какая изоэлектрическая точка связана с нашими фракциями. Применяя в опыте по электрофорезу верональный буфер вместо глицинфосфатного, мы обнаружили, что фракции чаще всего движутся в направлении к аноду. Это то, что можно было бы ожидать, если учитывать величину рН буфера и, вероятно, изоэлектрические точки фракций. В этом опыте мы обнаружили самое большое различие между мясными пробами с малой и большой величиной рН<sub>1</sub>, связанное с быстро движущейся фракцией. Однако при использовании веронального буфера фракционирование не было таким хорошим, как при глицинфосфатном буфере.

В ходе исследований было замечено новое явление — уменьшение количества экстрагируемого белка при рН 6,4. Возможно, что при таких величинах рН коагуляция и конденсация происходят в меньшей степени, чем при низкой величине рН.

То, что коагуляция происходит, подтверждается определением содержания азота в фибриллярных белках, выделенных из проб, нагретых до 38° после того, как получены различные величины рН (табл. 2). Когда рН = 6,4, количество азотистого вещества в фибриллярном белке увеличивается.

Следовательно, напрашивается предположение, что скорость посмертного уменьшения рН, дающая величину рН<sub>1</sub>, равную примерно 6,3 - 6,4, имеет наибольшее значение для влагопоглощаемости мяса. Мы проанализировали субъективную оценку зависимости цвета мышцы *longissimus dorsi* <sup>тысячи</sup> подопытных свиней от соответствующих величин рН<sub>1</sub>. Результаты представлены на рис. 7. Оказывается, что балл за цвет мяса снижается, когда величина рН<sub>1</sub> становится больше 6,5.

## ВЫВОДЫ

Определили количество экстрагируемого белка саркоплазмы в зависимости от величины  $pH_1$  проб свиной мышцы *longissimus dorsi*. Когда  $pH_1$  ниже 6, количество экстрагируемого белка значительно меньше, чем когда  $pH_1$  находится в пределах 6,3 - 6,4. Опыты по электрофорезу на бумаге показывают, что различия проявляются особенно в отношении фракции глобулин X саркоплазмы. Когда  $pH_1$  мяса выше 6,4, количество экстрагируемого белка саркоплазмы постепенно уменьшается.

### Благодарность

М-р К.Кржувицкий благодарит всех сотрудников биохимического отдела Датского научно-исследовательского мясного института за чрезвычайную любезность и помощь на всех этапах его работы.



Таблица 1

Результаты электрофоретических опытов

рН <sub>1</sub>	Концентрация фракции выражена в единицах площади (см <sup>2</sup> )				Общая концентрация	Диапазон рН
	I	II	III	IV		
5,20	1,85	5,12	4,20	-	11,70	Ниже 6,00
5,35	2,63	6,51	4,85	2,32	18,97	
5,40	3,68	5,60	3,97	1,05	14,99	
5,60	3,30	5,38	3,25	1,42	13,90	
5,61	2,27	6,16	4,22	1,63	17,22	
5,64	3,29	2,73	3,63	1,65	12,26	
5,84	3,88	5,37	4,34	1,49	15,96	
5,87	1,84	5,53	3,09	1,73	14,76	
5,90	2,64	5,42	3,49	1,44	13,40	
5,95	4,96	7,59	5,20	1,67	21,23	
5,62	3,05	5,58	4,04	1,59	15,49	Средняя величина для проб с рН <sub>1</sub> ниже 6,00
6,31	3,51	8,71	5,50	2,58	25,25	6,3-6,4
6,32	5,44	8,34	5,71	1,90	26,82	
6,37	7,20	8,02	6,13	1,95	25,42	
6,33	5,38	8,36	5,78	2,14	25,83	Средняя величина для проб с рН <sub>1</sub> = 6,3-6,4

Продолжение

рН	Концентрация фракции выражена в единицах площади (см <sup>2</sup> )				Общая кон- центра- ция	Диапазон рН
	I	II	III	IV		
6,49	3,97	7,33	4,36	1,45	18,52	Выше 6,40
6,57	5,50	8,22	5,04	1,79	23,14	
6,61	4,42	3,88	5,81	2,17	20,69	
6,73	4,44	4,95	5,27	1,79	21,11	
6,78	4,54	8,57	4,06	2,09	20,64	
6,81	2,70	6,59	4,96	1,56	18,75	
6,87	3,97	5,46	3,90	1,28	15,10	
6,91	3,31	6,81	4,30	1,55	18,79	
6,72	4,11	6,48	4,71	1,71	19,59	Средняя величина для проб с рН 6,40

121

Таблица 2

Зависимость содержания белка и влагопоглощаемости фибрилл нагретых мясных проб от величины рН.

Измерения проводили, когда величина рН под действием 0,04 М калий-фосфата достигла 7,00.

рН	5,64	5,80	6,01	6,35	6,50	6,89	7,06
г белка на г мяса	0,136	0,132	0,120	0,118	0,126	0,140	0,111
г Н <sub>2</sub> О на г белка	8,58	9,83	11,42	12,35	11,25	10,45	14,40

Л и т е р а т у р а

1. Bendall J.R. and Wismer-Pedersen J. (1961): The VIIth meeting of meat re- search workers. Warsaw.
2. Briskey E.J. (1959): Paper N 15. The Vth meeting of meat research workers. Paris.
3. Briskey E.J. and Wismer-Pedersen J. (1961): "Food Science", 26, 297.
4. Clausen Hj. and Thomsen N. (1957) : 296. beretn. fra forsøgslab. Copenhagen
5. Jacob J. (1946): "Experientia", 2, 110.
6. Jacob J. (1947): "Biochem. J.", 41, 83.
7. Lawrie R.H. (1960): "J.Comp.Path.", 76, 273.
8. Lawry O.H., Rosebrough N.J., Farr H.L. and Randall R.J. (1951): "J.Biol.Chem." 193, 265.
9. Ludvigsen J. (1954): 272.beretn. fra forsøgslab. Copenhagen.
10. Perry S.V. (1956): "Physiol.Revs.", 36, 1
11. Wismer-Pedersen J. (1959): "Food Res." 24, 711.

221

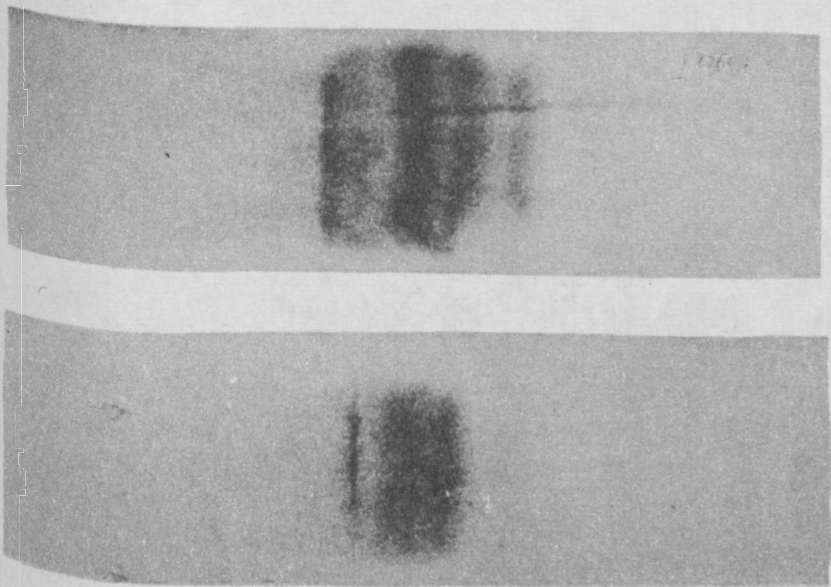


Рис. 1 Электрофоретические хроматограммы мясных экстрактов:

вверху - экстракт мяса с  $pH_1 = 6,31$ ;

внизу - экстракт мяса с  $pH_1 = 5,20$

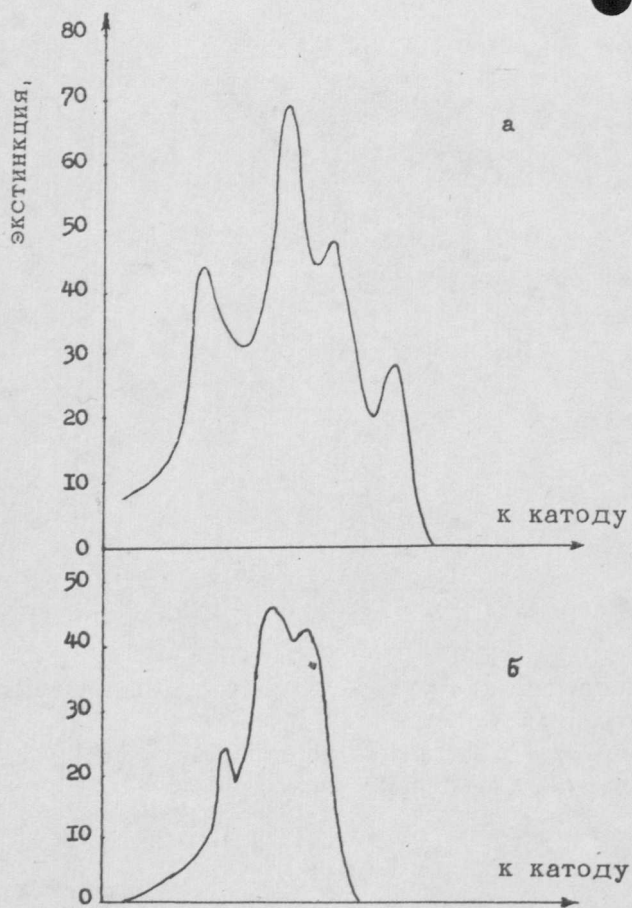


Рис. 2 Денситометрические кривые хроматограмм мясных экстрактов:

а) -  $pH_1 = 6,31$ ;  $pH_{и} = 5,43$ ;  
 б) -  $pH_1 = 5,20$ ;  $pH_{и} = 5,00$

концентрация белка в экстракте выражена на хроматограммах в единицах общей площади (см<sup>2</sup>);

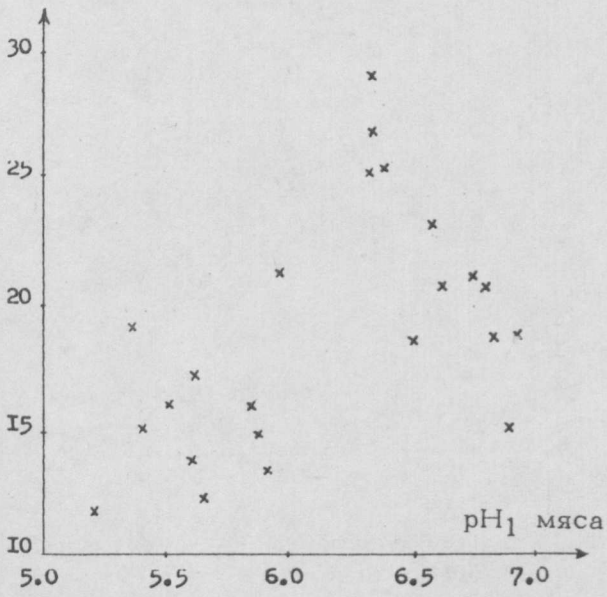


Рис. 3 Концентрация белка в экстрактах показана на графике перпендикулярно величине pH<sub>1</sub> экстрагированного мяса

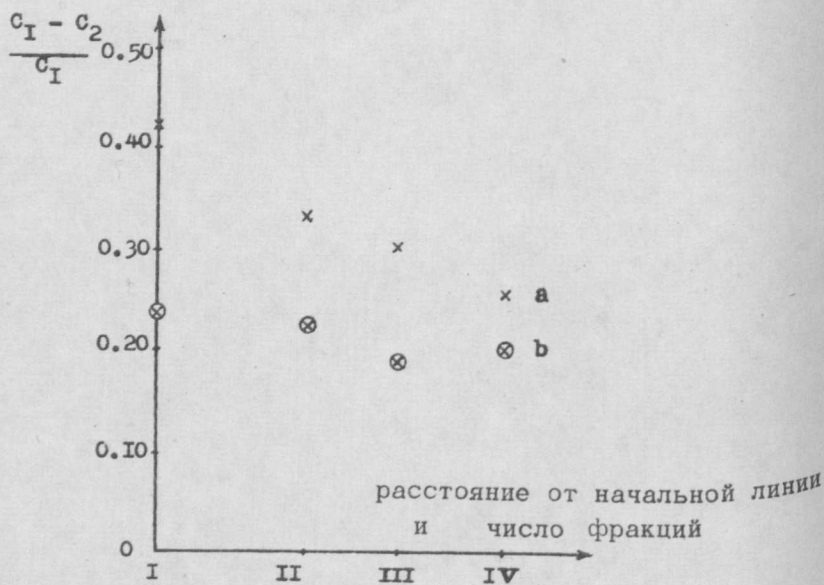


Рис. 4 Пропорциональное уменьшение отдельных фракций в более низком (а, x) и более высоком (в, ⊗) диапазоне величин  $pH_1$ . Величины подсчитаны по данным табл. 1.



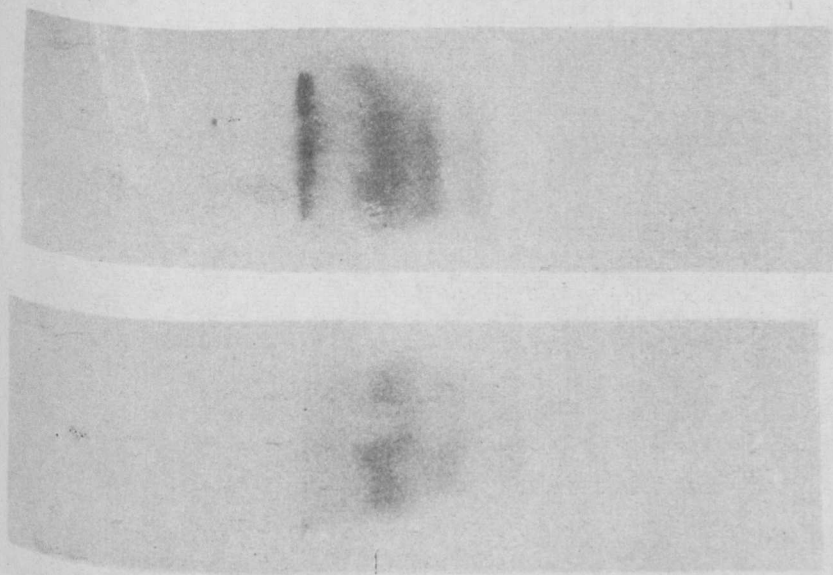


Рис. 5 Хроматограммы мясных экстрактов до диализа (вверху) и после диализа (внизу)

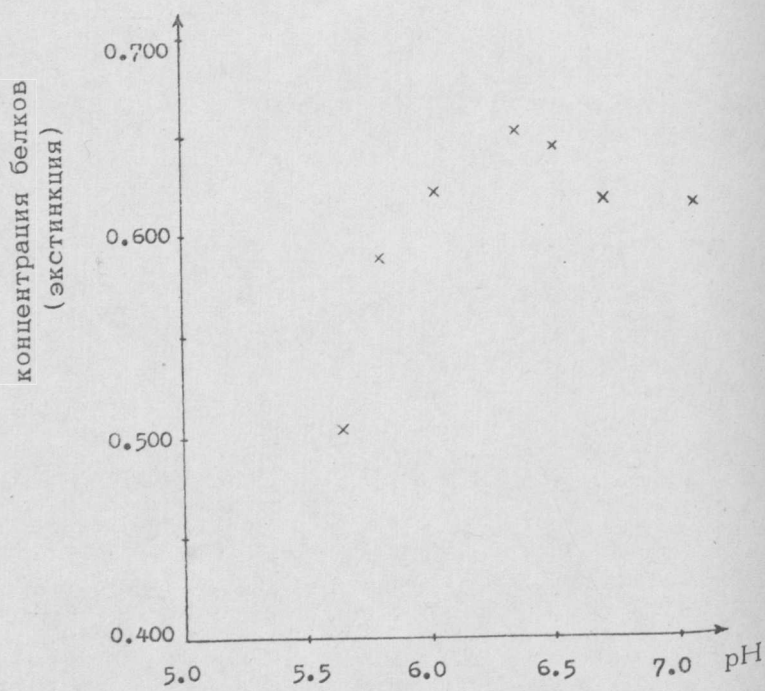


Рис. 6 Изменения концентрации белка в зависимости от величины pH. Результаты опыта с нагреванием.

125

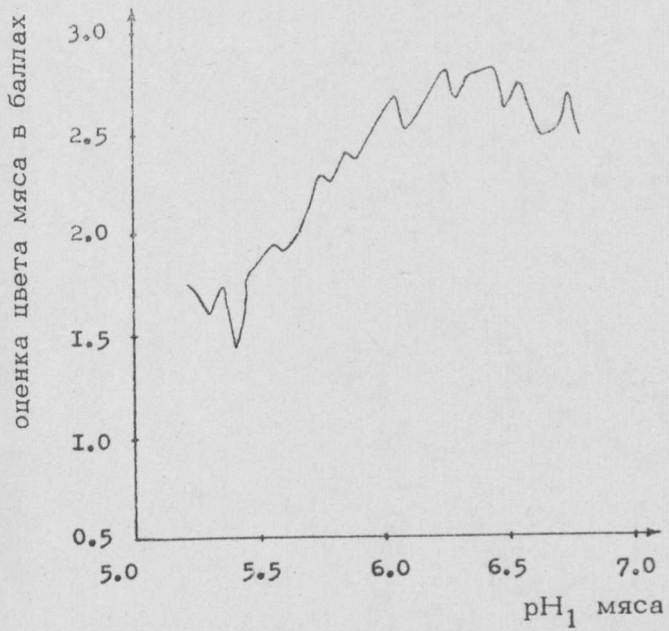


Рис. 7 Взаимосвязь цвета мяса и величины pH<sub>1</sub>.

