

"Изучении процессов растворимости миочечных белков и изменений фракций водорастворимого белка в зависимости от температуры хранения в первые 24 часа "post mortem"

А 7

Аврам Пинкас, Эмиа Тончева

Изменения, которые происходят во фракциях миочечного белка являются объектом многочисленных исследований, что объясняется зависимостью, существующей между этими изменениями и такими качественными показателями как нежность, цвет, структура и способность мышц удерживать воду /Weinberg и Rose, 1960; Sayre и Briskey, 1963; Negarty и сотр., 1963; Aberle и Merkel, 1966; Meelain и Mullins, 1969/. Уменьшение растворимости саркоплазматического и миофибрилярного белка наблюдается у бледных, мягких эксудативных мускулов /Sayre и сотр., 1963, 1964; Vorchart и сотр., 1964, 1965/, которое происходит при быстром гликолизе /уменьшение рН ниже 6/ при все еще высокой температуре мышц /выше 35°C/.

По Khan и сотр. /1963/, Sayre и Briskey, 1966; Chandru и сотр. /1969/, изменения в растворимости белков основных мускулов наступают еще в первые часы после убоя и продолжают в процессе созревания. В зависимости от температуры хранения Smith и сотр. /1969/ не устанавливает разницы в растворимости саркоплазматического и миофибрилярного белка грудных мышц птицы в первые часы post mortem во время их хранения при 0°C и 16°C. Со своей стороны Gell и сотр. /1964/ находят, что растворимость миочечных белков уменьшается до 6-го часа post mortem, после чего продолжительное время не изменяется. Khan и Van Den Berg /1964/ тоже устанавливает определенное понижение растворимости азотистых веществ в птичьих мускулах в первые 4-8 часа после убоя, вслед за чем однако наблюдают

повышение растворимости на 24-ом и 48-ом часу *post mortem*. Bercher и Briskey, 1965, Matsushima и Terel /1969/ наблюдали значительное уменьшение растворимости, особенно миофибрилярного белка мышц свиней в первые часы *post mortem* во время хранения при различных температурах,

Цель настоящего изучения заключается в том, чтобы установить с одной стороны, изменения в растворимости саркоплазматического миофибрилярного белка мускулов свиней непосредственно после убоя и спустя 18-часового хранения при 0°C и 16°C и, с другой, до какой степени условия хранения мускулов *post mortem* изменяют электрофоретическую картину, полученную при разделении водорастворимого белка.

Материал и метод работы

Для проведения настоящего исследования были использованы свиньи болгарской белой породы, откормленные до 95 кг живого веса. Пробу для анализа брали из длиннейшей мышцы спины /*m. longissimus dorsi* / непосредственно после обескровливания /спустя 15 минут. Часть мускула немедленно подвергали исследованию, а остальную часть разделенную продольно на две, оставляли для хранения при 0°C и 16°C.

Экстракцию мышечных белков производили при 4°C по методу Helander / /957/. Саркоплазматический белок экстрагировали в присутствии 0,03 М калиево-фосфатного буфера /рН= 7,4/. Общий растворимый белок экстрагировали с 0,1 М калиево-фосфатным буфером, содержащий 1,1 М КС /рН= 7,4/. Миофибрилярный белок вычисляли из разницы между общим растворимым и саркоплазматическим белком. Содержание небелкового азота установлено из разницы между общим азотом и суммой азота общего растворимого белка и азота стромы. Количество азота в отдельных экстрактах и строме определяли полумикрохельдаем, а общего макрохельдаем.

pH мышц измеряли стеклянным электродом, а водоудерживающую способность /ВУС/ - методом *Stam* и *Naam* /1953/.

Экстракт для электрофореза получен по методу *Aberle* и *Merkel* /1966/, причем все процессы проведены при 4°C. После 16-часового анализа экстракт подвергали электрофорезу на крахмальном геле. Использованный крахмал получен и гидролизован в нашей лаборатории. Аппарат, который проведен электрофорез описан *Таневич* /1967/. Гель приготавливали из 1%-ного крахмального раствора и 8 М мочевины в трис-цитратном буфере /рН - 8,6/. Разделение продолжали при силе тока 12 А и напряжении 300 В. Гель окрашивали амидонавардом 10 В. Консервирование проводили смесь из 3% глицерина и 7% желатин при 38°C /*Dangerfield* и *Faulkner*, 1963/. После высунивания, электроферограммы были денситометрированы аппаратом *Quete Titrator*. Площадь каждого пика была измерена планиметром. На полученных данных было вычислено процентное соотношение у семи наиболее интенсивных фракций.

Полученные результаты

Данные о растворимости мышечных белков, в 0 и 18 часов после убоя, у мускулов, хранившихся при 0°C и 16°C, даны в таблице 1. В этой же таблице отражены и данные о рН и ВУС мышц, измеренных соответственно при 0 и 18 часов после убоя.

Очевидно растворимость саркоплазмического белка у нормальных мускулов не поддается влиянию температуры при их хранении в первые 18 часов после убоя.

Определенное изменение наблюдается в растворимости миофибрилярного белка, которая в процессе хранения уменьшается на 2,004%. Независимо от того, что это понижение небольшое, оно повторяется во всех анализах, что дает основание учесть эти изменения.

Снижение растворимости, вероятно, обусловлено биохимичес-

кими процессами, которые протекают с наступлением *rigor mortis*, т.е. с процессом гликолиза и образованием комплекса - актомиозин. Различная температура при хранении /0°C и 16°C/ не оказала существенного влияния на растворимость миофибриллярного белка. Smith и сотр. /1969/ тоже не установили существенных различий в растворимости белков птичьих мышц во время их хранения при 0°C и 16°C.

Gell и сотр. /1964/ также не установили различий в растворимости белков во взятых на туши мускулах. При значительном повышении температуры во время хранения мышцы /40°C/ растворимость миофибриллярного белка резко уменьшается /Matsushima и Terel, 1969/. Подобные результаты получены Saute и сотр. /1969/ во время хранения мускулов при 35°C и Chadhry и сотр. /1969/ при температуре хранения 37°C. По Scores /1964/ снижение растворимости является результатом денатурирования части саркоплазмического белка, что получается при высокой температуре и рН ниже 6,0.

Очевидно температурные границы, в пределах которых проведено наше исследование, не оказывают существенного влияния как на растворимость саркоплазмического и миофибриллярного белка, так и на небелковый азот.

Полученные нами показатели рН как в 0 часов, так и в 18 часов после убоя сравнительно высоки. Они показывают, что гликолиз в этом случае протекает благоприятно и как можно было ожидать рН выше во время хранения мускулов при низкой температуре. ВУС мяса при 0 часов полная и не наблюдается выделение воды при прессовании. Это соответствует и высокому рН. На 38-ом часе наблюдается значительное уменьшение ВУС мускула, хранившегося как при 0°C, так и при 16°C. Разницы, полученные вследствие различной температуры хранения, незначительными и находятся в соответствии с разницей в рН.

Электрофорез водорастворимого белка проб одного и того же

мускула / *longissimus dorsi* /, хранившегося при 0°C и 16°C, произведен в 0²⁰, 6, 18 и 24 часа после убоя. Получены 14 фракций различной интенсивности. У семи наиболее интенсивных фракций вычислено процентное соотношение, данные которых приведены в таблице 2.

У 2 фракции наблюдается определенное уменьшение в зависимости от продолжительности хранения как при 0°C, так и при 16°C.

У 3 фракции установлено заметное увеличение с течением времени хранения мускулов при обеих температурах. Во всех случаях показатель этой фракции при температуре хранения 0°C выше, чем при 16°C.

У 4 фракции наблюдается определенные отклонения от первоначальных показаний с течением времени - одинаковые при обеих температурах хранения.

У 5 фракций намечается слабо выраженная тенденция к уменьшению, а у 6 фракций - к увеличению в зависимости от продолжительности хранения и при обеих температурах.

У 8 и 9 фракциях наблюдается выраженная тенденция к уменьшению при обеих температурах хранения.

Наблюдаемые колебания можно было бы объяснить после идентификации отдельных фракций электромиофореграмм, каждая из которых представляет один или комплекс энзимов. *Vogcherl* и соот. /1969/ установили креатинкиназную активность в двух фракциях и фосфогликомутазную и тризофосфатизомеразную активность в двух других фракциях. Сопоставляя эти результаты с полученной нами электромиофореграммой можно предположить, что креатинкиназа локализована в 3 и 5 фракциях, фосфогликомутаза - в 2 фракции и тризофосфатизомераза - в 4 фракции. Миоглобин сконцентрирован во 8 фракции.

Наблюдаемые, хотя и небольшие, изменения можно объяснить автолитическими процессами, протекающими в мускулах до, во время и после наступления *rigor mortis*

кими процессами, которые протекают с наступлением *rigor mortis*, т.е. с процессом гликолиза и образованием комплекса - актомиозина. Различная температура при хранении /0°C и 16°C/ не оказала существенного влияния на растворимость миофибриллярного белка. Smith и сотр. /1969/ тоже не установили существенных различий в растворимости белков птичьих мышц во время их хранения при 0°C и 16°C. Goll и сотр. /1964/ также не установили различий в растворимости белков во взятых на туши мускулах. При значительном повышении температуры во время хранения мышцы /40°C/ растворимость миофибриллярного белка резко уменьшается /Matsushima и Torrel, 1969/. Подобные результаты получены Saugre и сотр./1969/ во время хранения мускулов при 35°C и Chadhy и сотр. /1969/ при температуре хранения 37°C. По Scores /1964/ снижение растворимости является результатом денатурирования части саркоплазмического белка, что получается при высокой температуре и pH ниже 6,0.

Очевидно температурные границы, в пределах которых проведено наше исследование, не оказывают существенного влияния как на растворимость саркоплазмического и миофибриллярного белка, так и на небелковый азот.

Полученные нами показатели pH как в 0 часов, так и в 18 часов после уоя сравнительно высоки. Они показывают, что гликолиз в этом случае протекает благоприятно и как можно было ожидать pH выше во время хранения мускулов при низкой температуре. ВУС мяса при 0 часов полная и не наблюдается выделение воды при прессовании. Это соответствует и высокому pH. На 38-ом часе наблюдается значительное уменьшение ВУС мускула, хранившегося как при 0°C, так и при 16°C. Разницы, полученные вследствие различной температуры хранения, незначительными и находятся в соответствии с разницей в pH.

Электрофорез водорастворимого белка проб одного и того же

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Растворимость саркоплазматического белка в нормальном длинном мускуле спины свиней не изменяется в первые 18 часов *post mortem* и не поддается влиянию температуры хранения. У миофибриллярного белка наблюдается небольшая тенденция к уменьшению растворимости спустя 18 часов после убоя независимо от температуры хранения. В рН и ВУС исследованного мускула при 0°C и 16°C не наблюдается достоверных различий.

В первые 24 часа *post mortem* наблюдаются определенные и большие количественные изменения в отдельных фракциях водорастворимого белка, полученные при электрофорезе на крахмальном геле.

Таблица 1

Название мышечных белков	Растворимость в: %		
	0 часов	18 ч. при 0°C	18 ч. при 16°C
Саркоплазмный	0.89	0.90	0.91
Миофибриллярный	1.55	1.48	1.49
Небелковый азот	0.27	0.28	0.27
pH	6.38	5.89	5.72
ВУС ^{ЖЖ}	0.-	6.21	6.52

% - растворимость, выражена в мг азота на г сырой ткани
 ЖЖ - ВУС, выражена в кв.см.

Таблица 2

Процентное соотношение у 7-ми фракции водорастворимого белка длиннейшего мускула спины

Время	Фракции					
	2		3		4	
	0°C	16°C	0°C	16°C	0°C	16°C
0 ²⁰	21.3		39.6	11.7	11.7	
6	21.9	20.0	40.7	39.9	10.9	11.8
18	17.8	21.5	45.5	45.0	16.0	13.9
24	19.6	18.2	44.4	42.9	12.1	12.6

Время	Фракции							
	5		6		7		8	
	0°C	16°C	0°C	16°C	0°C	16°C	0°C	16°C
0 ²⁰	6.6		3.9		8.1		8.6	
6	6.1	7.1	4.4	4.1	7.2	8.7	7.8	8.5
18	5.7	6.6	3.2	4.0	6.8	6.0	7.8	5.9
24	5.9	4.9	4.4	4.5	6.8	6.5	6.6	7.9

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. WEINBERG B., D.Rose - Food Technol. 14, 1960.
2. SAYRE R. N., E.J.Briskey - J.Food.Sci. 28. 1963.
3. SAYRE R.N., Kiernat B., Briskey E.J. - 1964, J.Food.Sci.29.
4. HERARTY. G.R., L.J.Bratzler, A.M.Pearson -
J.Food.Sci. 28.1963.
5. ABERLE E.D., Merkel R.A. - J.Food.Sci. 31, 1966
6. MELLAIN P.E. and A.M. Mullins -
J.Anim.Sci. 29.1969.
7. BORCHERT L.L., E.J. Briskey - J.Food.Sci.29,1964
8. BORCHERT L.L., E.J. Briskey - J.Food.Sci.30.1965.
9. KHAN A.W., van den Berg.G.P.Ientz. - J.Food.Sci.28.1963.
10. SAYRE R.N., J.Para and E.J.Briskey - J.Food.Sci.31.1966.
11. CHANDHRY H.M., F.C.Parri, JR and D.E.Goll. -
J.Food.Sci. 34. 1969.
12. SMITH, JR M.C., M.D.Judge, W.J.Stadelman - J.Food.Sci.34.1969.
13. GOLL.D.E., D.W.Henderson., E.A.Kline - J.Food.Sci.29.1964.
14. KHAN A.W., and L.van den Berg. - J.Food.Sci. 29.1964.
15. MATSUSHIMA C.Y., D.G.Topel - J.Anim.Sci.,29.1969.
16. HELENDER E. - Acta Physiol.Scand. 41.1957.
17. GRAN R., R.Hamm - Fleischwirtschaft, 4, 1952.
18. TAHEB Г. - Животноводные науки, 8, 1967.
19. DANGERFIELD W., Faulkner G. - Nature, 200;388.1963.
20. SCOPES R.K. - Biochemical J. 91.1964.
21. BORCHERT L.L., W.D.Powrie, R.J.Briskey - J.Food.Sci.34.1969.