

Изменение фракционного состава белков мяса во время его хранения

Н.А. ГОЛОВКИН, Р.П. ИВАНОВА

Ленинградский технологический институт холодильной промышленности,
Ленинград, СССР.

Изучение фракционного состава белков мяса позволяет глубже понять характер развития биохимических процессов, протекающих в нем, что является дополнительным основанием к выбору и оценке технологических режимов холодильной обработки и хранения мяса. Около 1/3 часть белков составляют саркоплазматические белки. Многие из них наделены каталитическими свойствами и поэтому активно влияют на многие процессы, протекающие в мясе. Состояние миофибриллярных белков во многом определяет качество мяса.

Целью данной работы является изучение изменений качественного и количественного состава саркоплазматических и миофибриллярных белков мяса во время его холодильной обработки и хранения в пересохшем состоянии.

Исследования служили полусухожильные мышцы *semitendinosus* крупного рогатого скота. Опытные образцы мяса после предварительного охлаждения до температуры 12°C в вакуумном трехмиллиметровом слое и выдержки при этой же температуре в течение 15 часов, упаковывали под вакуумом в пленку "повиден". Остаточное давление воздуха в упаковке составляло 6,6 кПа. Переохлаждение и хранение образцов осуществляли при температуре -20°C до 5 суток. Образцы мяса подвергали анализу в парном состоянии, после его холодильной обработки и затем при хранении каждые 7 суток.

Для характеристики белкового состава был использован метод электрофореза на полиакриламидном геле с додецилсульфатом натрия по Веберу и Осборну [1], в модификации [2] для наиболее полного разделения белков мяса. Разделение белков в присутствии додецилсульфата натрия /SDS/ позволяет определять молекулярную массу белковых фракций. Известно, что скорость перемещения обработанного SDS белка и логарифмом его молекулярной массы существует прямолинейная зависимость [4,7].

Полученные в результате электрофореза белки перед электрофорезом обрабатывали додецилсульфатом натрия и β -меркаптоэтанолом. Электрофорез проводили в прямоугольной камере из органического стекла с платиновыми электродами. Величину тока поддерживали на уровне 5 ма на гель. По окончании электрофореза гели окрашивали в течение 15 минут 1% раствором амидо-шварц IOB в 7% уксусной кислоте. Избыток красителя отмывали раствором 7% уксусной кислоты. Время проведения электрофореза 4,5 - 5 часов.

В результате электрофоретического разделения белков саркоплазмы было получено 10 зон разной ширины и интенсивности окрашивания. Полученные фракции были идентифицированы с помощью калибровочной кривой, зависимости электрофоретической подвижности белков от их молекулярной массы. В состав исследуемых белков саркоплазмы входят глобулин X (мол. масса 140000-180000), миоген (мм. 150000-81000), миоальбумин (м.м. 65000), миоглобин (м.м. 17000-16900) [5]. Все они представляют собой гетерогенные системы. В соответствии с электрофоретическими зонами I, 2, 3 соответствуют глобулину X и миогеновой группе, 4 зона - миоглобину, в состав наиболее подвижных 9, 10 фракций входит миоглобин. Остальные зоны, соответствующие белкам с молекулярной массой 20000 - 43000, не идентифицированы, так как их молекулярные массы не укладываются в известные группы молекулярных масс саркоплазматических белков.

В процессе хранения мяса происходит появление новых белковых зон. Начиная с 14 суток хранения мяса появляются фракции 3^X и 7^X с молекулярными массами 90000-100000 и 20000 соответственно. Одной из возможных причин появления новых белковых зон может служить протеолиз саркоплазматических белков [6,7].

Для количественной оценки белковых зон электрофореграммы сканировали на денситометре фирмы "Carl Zeiss". Обработку денситограмм производили с помощью полуавтоматического цифрового преобразователя каротажных диаграмм и электронно-вычислительной машины "Найри-2". Расчет количества белков в каждой фракции осуществляли исходя из концентрации нанесенного на гель белкового раствора. Содержание белков во фракциях относили к 100 г мышечной ткани.

Более высокое суммарное содержание белков всех фракций и в каждой по отдельности соответствует парному мясу (табл. I). Хранение мяса сопровождается уменьшением общего количества белков во фракциях. Наиболее существенно снижается при этом количество глобулина X. В конце хранения его содержание уменьшилось более, чем в 2 раза, что согласуется с данными исследований [6]. Экстрагируемость миогена имеет максимальное значение на 7-21 сутки. Содержание миоальбумина на протяжении всего периода хранения мяса было выше по сравнению с таковым для парного мяса, что позволяет полагать о недоступности указанного белка для действия тканевых протеолитических ферментов. Наиболее заметному уменьшению подвергается белки с молекулярной массой 20000-43000. Таким образом, уменьшение экстрагируемости белков переохлажденного мяса происходит, в основном, за счет снижения фракции глобулина X и фракций с молекулярной массой 20000 - 43000.

В результате электрофоретического разделения миофибриллярных белков было получено 12 зон различной интенсивности окрашивания. Наибольшее число белковых зон находится в верхней части геля, то есть в области высоких молекулярных масс. Зоны 1, 2, 3, 4, 5 на денситограмме содержат соответственно тяжелые цепи миозина и ряд белков, прочно связанных с миозиновыми и актиновыми филаментами (M-белок, C-белок, белок с молекулярной массой примерно 105000, α -актинин). В состав двух больших зон 8 и 9 входят соответственно мономер

Table 1. Таблица I

Изменение качественного и количественного состава саркоплазматических белков мяса во время его хранения
Changes in the qualitative and quantitative composition of meat sarcoplasmic proteins during storage

Сутки хранения Storage time, days	Содержание белков во фракциях, г/100 г мышечной ткани Protein in fractions, g/100 g muscle										Σ
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
0 (парное) fresh-warm	0,061	0,278	0,057	0,376	1,17	0,479	0,369	0,104	0,457	0,082	3,43
I (после выдержки) (aged)	0,054	0,217	0,051	0,349	0,997	0,443	0,327	0,114	0,479	0,080	3,11
7	следы traces	0,177	0,063	0,380	0,448 0,481	0,462	0,326	0,101	0,407	0,089	2,93
14	следы traces	0,209	x0,036 0,064	0,441	0,326 0,656	0,415	0,173 x0,102	0,094	0,369	0,075	2,96
21	следы traces	0,127	x0,044 0,064	0,384	0,259 0,573	0,178	0,190 x0,087	0,101	0,457	0,091	2,72
28	следы traces	0,127	x0,020 0,040	0,389	0,293 0,547	0,160	0,232 x0,180	0,082	0,480	0,087	2,80

x - появившиеся зоны (zones appeared)

актина и тропонин Т с тропомиозином. Белки с молекулярной массой порядка 90000-70000 (зоны 6,7) не идентифицированы. Наиболее подвижными являются легкие цепи миозина III-1, III-2, III-3 и тропонин I. Полученные результаты электрофоретического разделения белков мышц *semitendinosus* крупного рогатого скота вполне согласуются с электрофоретическими данными фракционирования миофибрилярных белков мышц других животных [5,7]. Из данных по определению количественных изменений белковых фракций в процессе холодильной обработки и хранения мяса при субкриоскопических температурах (табл.2), следует, что хранение мяса в переохлажденном состоянии сопровождается увеличением количества экстрагируемого миозина ("тяжелых" и "легких" полипептидных цепей). Существенным изменениям во время хранения мяса подвергается актин. Так, содержание этого белка в экстракте к концу хранения мяса увеличивается почти в 4 раза. Это связано с повышенной извлекаемостью актина по мере хранения мяса и объясняется, по-видимому, деградацией F-актина. Вместе с тем, количество белков фракции, в состав которой входит тропонин Т (зона 9), напротив уменьшается. Кроме того, появляется белковая зона 9^x, содержащая белки с молекулярной массой 30000. Появление этой зоны 9^x происходит после выдержки мяса при положительной температуре, на I сутки (табл.2). Начиная с 21 суток появляется еще одна зона с молекулярной массой 27000. Многими исследователями [8] было установлено, что появление новых белковых полос с молекулярной массой 27000-30000 происходит за счет деградации тропонина Т, в результате которой миофибриллы фрагментируют по Z-линиям. Существенно отметить при этом, что расщепление миофибрилл по Z-линиям и появление компонента с молекулярной массой 30000 связаны с увеличивающейся нежностью мяса [9]. Минорные белки (M-протеин, C-белок, α-актинин) во время хранения мяса претерпевают незначительные изменения. Интересным является тот факт, что не наблюдается существенных количественных изменений α-актина, хотя как известно он локализован в Z-линиях миофибрилл. Фрагментация миофибрилл по Z-линиям может происходить, по-видимому, без деградации или высвобождения α-актина. Таким образом, во время хранения мяса в переохлажденном состоянии увеличение экстрагируемого актина указывает на разрушение миофибрилярной структуры. При этом наиболее важным моментом является появление белковой фракции с молекулярной массой 30000, наличие которой может служить показателем нежности мяса.

Литература

1. Weber R. and Osborn M. The reliability of molecular weight determinations by dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis. "J. Biol. Chem.", 1969, 244, p. 4406.
2. Иванова Р.П. Метод электрофореза и применение его для исследования изменений белков мышечной ткани в процессе холодильной обработки. Тезисы докладов III-Всесоюзной научно-тех-

Table 2.

Изменение качественного и количественного состава миофибриллярных белков мяса во время хранения. Changes in the qualitative and quantitative composition of meat myofibrillar proteins during storage

Таблица 2. -----

Содержание белков в фракциях, г/100 г мышечной ткани
Protein in fractions, g/100 g muscle

Storage time, days	I	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	Σ
0 (свежее) (fresh-warm)	0,122	0,038	0,032	0,057	0,025	0,015	0,034	0,104	0,340	0,109	0,044	0,047	0,97
1 (после выдержки) (aged)	0,097	0,034	0,026	0,056	0,030	0,017	0,035	0,133	0,272 x0,045	0,098	0,059	0,045	0,95
7	0,104	0,047	0,040	0,084	0,025	0,022	0,033	0,158	0,212 x0,062	0,104	0,073	0,056	1,02
14	0,133	0,046	0,025	0,088	0,033	0,033	0,072	0,242	0,235 x0,072	0,102	0,107	0,144	1,33
21	0,138	0,043	0,033	0,104	0,038	0,042	0,060	0,280	0,212 x0,070 xx0,105	0,117	0,049	0,120	1,41
28	0,130	0,043	0,040	0,110	0,030	0,052	0,119	0,391	0,219 x0,072 xx0,086	0,161	0,080	0,155	1,70

x - появившиеся зоны (zones appeared)