

Изменение липидных фракций мышечной ткани говядины при хранении

Е.Н. ЛАЗАРЕВ, В.А. ГЕРАСИМОВА, Л.Д. ПАТРАКОВА, В.Н. СИМОНОВА, Н.А. АНТОНОВ

Институт советской торговли им. Ф.Энгельса, Ленинград, СССР

Важными биологически активными веществами, играющими большую роль в прижизненных процессах и послеубойных изменениях мяса, являются фосфолипиды и углеводороды. Следует однако сказать, что состав и содержание фосфолипидов мышечной ткани говядины изучен недостаточно полно. В литературе почти не освещены вопросы об изменениях фосфолипидов мяса при хранении. Углеводороды до сих пор остаются одним из самых малоизученных классов соединений, входящих в состав липидов. Особое важное значение в изменениях мяса при хранении имеет сквален — предшественник при биосинтезе холестерина; олефины; способные трансформироваться в карбоновые кислоты алканы, и арены, представляющие канцерогенную опасность [1].

Целью работы явилось изучение количественного содержания и качественного состава липидов, фосфолипидов и углеводородов мышечной ткани охлажденной говядины, а также их роли в послеубойных изменениях и процессах, происходящих при хранении.

Объект и методы исследования. Исследовалась филейная вырезка от туш говядины I категории упитанности одного возраста и породы животных, полученная через сутки после убоя. Образцы мышечной ткани массой около 1 кг хранились в холодильной камере при температуре 0°C и относительной влажности воздуха 85% в течение 15 суток. Анализ проводился через 1-2 суток. Проведены две серии опытов в пяти повторностях. Сохраняемость охлажденной говядины оценивалась следующими показателями: органолептическими, микробиологическими, количественными и качественными изменениями липидов, фосфолипидов, углеводов.

Органолептическую оценку мяса проводили сенсорным методом по 15 балльной системе. Качество устанавливалось по цвету, состоянию поверхности, нежности и сочности, запаху сырого мяса, а также вкусу и аромату при кулинарной обработке. Микробная обсемененность характеризовалась микробным числом (МЧ) и составом микрофлоры. Липиды из среднего образца мышечной ткани экстрагировали бинарной смесью хлороформ-метанол в соотношении 1:1 по объему. Количество растворителя в 50 раз превышало массу навески. Содержание липидов в мышечной ткани определяли методом высушивания до постоянной массы. Состав и содержание липидов, фосфолипидов и углеводов изучали методом тонкослойной хроматографии (ТСХ) на силикагеле ЛСЛ₂₅₄ чешского производства [1-3]. Пластинки со слоем силикагеля активировали в течение 1 ч при температуре 110°C. Липиды наносили на пластинку в растворе хлороформа тонкой полоской в количестве 100-150 мг при фракционировании общих липидов и в количестве 70-80 мкг по R_f при разделении фосфолипидов. Использовались следующие системы растворителей в ТСХ для общих липидов: петролейный эфир-диэтиловый эфир-ледяная уксусная кислота в соотношении 70:30:1, для фосфо-

липидов: хлороформ-метанол-вода в соотношении 65:25:4 по объему. Идентификацию пятен липидов проводили путем нанесения меток свидетелей, фосфолипиды идентифицировали по R_f фосфолипидов куриных яиц [4]. Содержание общих липидов рассчитывали на исходное вещество. Количество общих фосфолипидов устанавливали после их минерализации путем опрыскивания 50% раствором серной кислоты с последующей выдержкой при 180°C в течение 1 ч. О содержании фосфолипидов судили по молярному фосфору, количество которого определяли колориметрическим методом в модификации Лукова А.В. и Верецагина А.Г. [5]. Минерализованные пятна элюировали раствором бихромата калия в концентрированной серной кислоте и выдерживали элюаты при 100°C в течение 1 ч. Окрашенные растворы фосфора колориметрировали на спектрофотометре СФ-16 при длине волны 820 нм. Содержание фосфолипидов рассчитывали по количеству липидного фосфора, которое устанавливали по калибровочной кривой. Для ее построения применяли раствор однозамещенного фосфорнокислого калия в бидистиллированной воде.

Углеводороды определяли по методике, разработанной в институте питания АМН СССР [1, 6] в собственной модификации [7]. Количество углеводородов определяли методом колоночной хроматографии следующим образом. Липиды, выделенные из мышечной ткани, количественно переносят на препаративную колонку с силикагелем КСК 80-100 меш. В качестве элюента использовали очищенный гексан и диэтиловый эфир в соотношении 97:3. Элюат в количестве 50 мл упаривали на ротационном испарителе. Оставшиеся после отгонки растворителей углеводороды взвешивали, доводя до постоянной массы, и их содержание пересчитывали на кг продукта. Для определения состава углеводородов их фракции (R_f 0,9-1,0) элюировали с пластин, на которых хроматографировали общие липиды, концентрировали и разделяли в системе гептан-бензол в соотношении по объему 9:1 на пластинках с силикагелем ЛСЛ₂₅₄. Углеводороды наносили на пластинки в гексане в виде узкой полоски. Идентификацию проводили по значениям R_f свидетелей. Эта процедура позволяет разделить углеводороды на n-алканы в сумме с циклоалканами и n-алкенами, полиены изопреноидаренов, R_f которых совпадает с R_f алканов и алкенов, проводили качественную реакцию (по Настюкову) [6]. Для этого пластинку в зоне R_f 0,9-1,0 обрабатывали раствором 40% формалина и концентрированной серной кислоты. Фракции алканов и алкенов затем элюировали с пластин смесью диэтиловый эфир-гексан, упаривали и разделяли на пластинках с сорбентом силикагелем ЛСЛ₂₅₄, обработанным азотнокислым серебром в количестве 5%, в системе диэтиловый эфир-гексан в соотношении 1:9. Для более четкого разделения изопреноидов пластинки повторно хроматографировали в той же системе, что позволило выявить сквален и его частично гидрированные производные. Об изменении углеводородов при хранении судили по интенсивности пятен и их площадям.

Результаты исследований и их обсуждение.

Содержание липидов в мышечной ткани говядины перед хранением составило в среднем 3,3%. Во время хранения говядины в охлажденном состоянии общее содержание липидов почти не изменялось.

Таблица
Table

Изменение количества фосфолипидов и микробного числа мышечной ткани Говядины при хранении ($t = 0^{\circ}\text{C}$, $\psi = 85\%$)

Modification of total quantity of phospholipids and microbial count in muscular tissues of beef during storage ($t = 0^{\circ}\text{C}$, $\psi = 85\%$)

Продолжительность хранения, сутки Storage, days	Содержание фосфолипидов, мг%; $p < 0,05$ число Quantity of phospholipids, mg%; $p < 0,05$	Микробное число Microbial count
0	108,4 ± 1,1	$2,0 \times 10^3$
2	109,2 ± 1,5	$8,3 \times 10^3$
3	117,3 ± 1,3	$2,4 \times 10^4$
5	90,5 ± 1,7	$6,1 \times 10^4$
7	44,6 ± 0,7	$3,4 \times 10^5$
9	26,6 ± 0,9	$1,0 \times 10^6$
11	23,0 ± 1,0	$4,7 \times 10^7$
13	22,5 ± 0,8	$2,8 \times 10^8$
15	22,1 ± 1,5	$5,1 \times 10^{10}$

Тениновых комплексов приводит к накоплению фосфолипидов. На 4-5 сутки хранения отмечено незначительное изменение цвета мяса с поверхности, его запах стал недостаточно выраженным. Установлена тенденция к снижению общего количества фосфолипидов (рис.3), что связано с окислительными процессами за счет диффузии кислорода воздуха внутрь тканей. Фосфолипиды подвергаются более глубокому окислению, чем другие липиды, благодаря высокому содержанию в их составе полиеновых жирных кислот $C_{18} - C_{24}$ [8].

При исследовании состава липидов мышечной ткани говядины обнаружено 8 фракций фосфолипидов, моноглицериды, холестерин, свободные жирные кислоты, диглицериды, триглицериды, эфиры стерина, углеводороды (рис.1). После разделения липидов в системе хлороформ-метанол-вода получены следующие фракции фосфолипидов: сфингомиелины, фосфатидилсерин, фосфатидилхолин, фосфатидилэтаноламин, а также фракция цереброзидов (рис.2а). Установлено, что среди фосфолипидов мышечной ткани говядины доминируют фосфатидилхолин и фосфатидилэтаноламин. Это согласуется с данными [8]. Фракция лизофосфолипидов обнаружена на хроматограммах после 7 суток хранения (рис.2б). Определены количественные изменения фосфолипидов мышечной ткани говядины при хранении (таблица и рис.3). В начале хранения в липидах мышечной ткани содержалось 108 мг% фосфолипидов. В 1-3 сутки хранения изменения мяса связаны с процессами созревания. Отмечено улучшение нежности, сочности, вкуса и аромата мяса при кулинарной обработке. Установлено, что одновременно с этим увеличивается содержание фосфолипидов в среднем на 8% по сравнению с исходными данными. По-видимому, в этот период послеубойных изменений гидролиз липопр

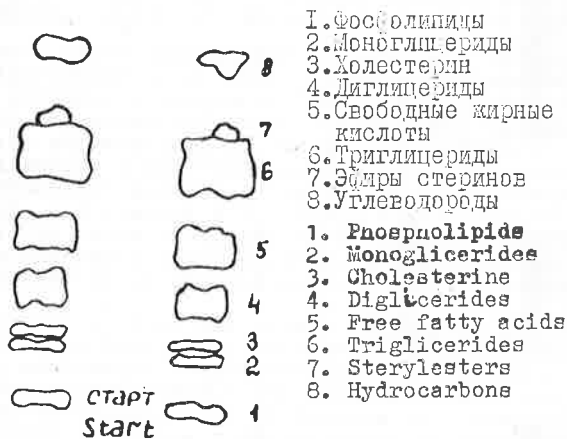


Рис.1. Схема хроматограммы общих липидов мышечной ткани говядины

Fig.1. Chromatogram of total lipids in muscle tissues of beef

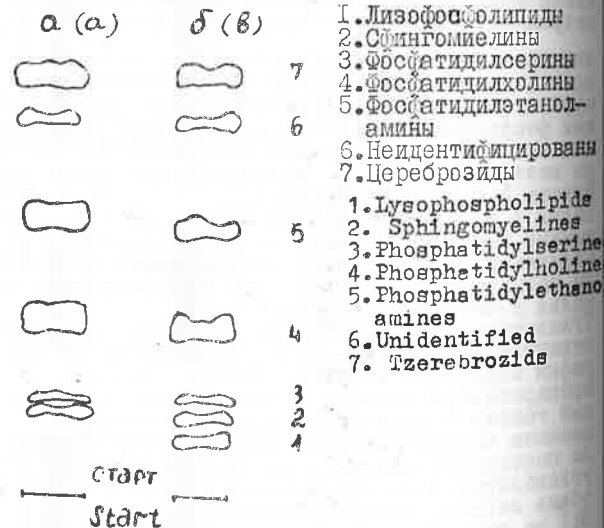


Рис. 2(а,б). Схема хроматограммы фосфолипидов мышечной ткани говядины а) начало хранения б) конец хранения

Fig.2.(a,b). Chromatogram of phospholipids in muscle tissues of beef а) start of storage б) finish of storage

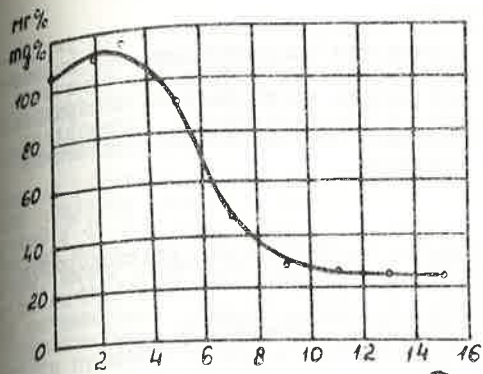


Рис. 3. Изменение общего количества фосфолипидов мышечной ткани говядины (мг%) при хранении (τ) сутки

Fig. 3. Modification of total quantity of phospholipids in muscular tissues of beef (mg %) during storage (τ) days

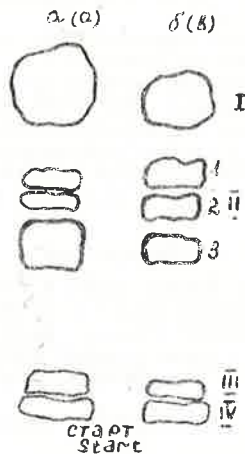


Рис. 4(а, б). Схема хроматограммы общих углеводов мышечной ткани говядины а) начало хранения б) конец хранения

Fig. 4 (a, b). Chromatogram of total hydrocarbons in muscular tissues of beef а) Start of storage б) Finish of storage

Фракция I
n-алканы в сумме с цикло-
алканами и n-алкенами
Фракция II- изопреноидные
полиены:
1. Тетрагидросквален
2. Дигидросквален
3. Сквален
Фракция III- каротиноиды
Фракция IV- неидентифици-
рованные пигменты

Fraction I
n-alkanes together with
cycloalkanes and n-alkenes
Fraction II - isoprenoids:
1. Tetrahydro-squalene
2. Dihydro-squalene
3. Squalene
Fraction III - carotenoids
Fraction IV - unidentified

Кроме того, под действием тканевых и микробных липаз происходят гидролитические изменения фосфолипидов. После 5 суток хранения содержание фосфолипидов в мясе уменьшилось почти в 3 раза и составило на 9 сутки 26,6 мг%. Одновременно с этим отмечено снижение содержания фосфатидилэтаноламинов и фосфатидилхолинов. В этот период величина и интенсивность окраски их пятен на хроматограммах уменьшилась. Вероятно, это связано с более высоким содержанием в их составе полиеновых кислот C_{20} по сравнению с другими фосфолипидами [9] и образованием за счет окисления их лизоформ. На хроматограммах в этот период появляется пятно лизофосфолипидов (рис. 2б). Лизофосфолипиды, повышая проницаемость клеточных мембран, возможно, способствуют увеличению взаимодействия ферментов клеток с белками межклеточного вещества, что, по-видимому, обуславливает накопление продуктов распада и приводит к ухудшению состояния поверхности и цвета мяса. Одновременно с окислительными и гидролитическими изменениями липидов мяса наблюдалось заметное развитие микрофлоры (таблица). Если в начале хранения состав микрофлоры был типичен для свежего мяса, то к девятым суткам значительно увеличилось количество диплококков, плесеней, бактерий гнилостной группы. Микробное число в этот период составило 10^8 при исходном значении $2,0 \times 10^6$. Можно предположить, что разрушение фосфолипидов в это время осуществляется в основном под контролем бактериальных фосфолипаз и липоксидаз, обладающих высокой специфичностью действия. После 9 суток хранения отмечена незначительная стабилизация фосфолипидов, содержание которых к концу 15 суток хранения снизилось незначительно по сравнению с 9 сутками. Изменения мяса на заключительном этапе хранения в значительной степени связаны с микробиологическими процессами. Это подтверждается высокими значениями МЧ, достигшими к концу хранения 5×10^{10} .

По данным двух серий опытов содержание углеводов в липидах мышечной ткани говядины составило 100-120 мг на кг продукта. При разделении углеводов в системе гептан-бензол получены 4 фракции, идентифицированные как n-алканы в сумме с циклоалканами и n-алкенами (I), изопреноидные полиены (II), каротиноиды (III), неидентифицированные пигменты (IV). Наиболее интенсивное окрашивание при обработке 2,7-дихлорфлуоресцеином дает зона I. Это видно и по величине пятна алканов и алкенов (рис. 4а). В составе фракции изопреноидных полиенов обнаружены сквален, дигидросквален, тетрагидросквален. При озолении пластинки после ее обработки 25% раствором серной кислоты установлено, что наиболее интенсивную окраску пятна имеет сквален. Показано, что фракция I состоит из алканов в сумме с циклоалканами, моно-, ди- и триненасыщен-ных n-алкенов. Качественная реакция на арены дала слабое оранжевое окрашивание в зоне I.

Установлено, что при хранении говядины содержание углеводов снижается (рис. 4б). На 9-15 сутки отмечено уменьшение площади пятна сквалена. Изменение сквалена сопровождалось накоплением его частично гидрированных производных (рис. 4б). Отмечено, что наибольшим изменениям при хранении мяса подвержены алканы и алкены. Если в начале хранения эта фракция доминировала среди углеводов, то на 9-15 сутки интенсивность окраски и площадь пятна уменьшилась почти вдвое (рис. 4б). При хранении снижение содержания n-алканов произошло, возможно, в связи

с их способностью трансформироваться в карбоновые кислоты, на что указывает общность строения этих соединений. Кроме того, при хранении могут изменяться и n-алкены за счет окисления по месту двойных связей.

Результаты исследований позволяют сделать следующие выводы.

Показана связь между накоплением фосфолипидов и созреванием мяса. Установлено, что ухудшение качества мяса сопровождается как снижением общего количества фосфолипидов, так и изменениями отдельных фракций вследствие окислительных и гидролитических процессов. Отмечено изменение фосфатидилэтаноламинов и фосфатидилхолинов, что скорее всего связано с образованием их лизоформ при хранении. Изучены углеводороды мышечной ткани говядины. Установлено, что при хранении содержание углеводов снижается. Показано, что наибольшим изменениям подвергаются сквалены, алканы и алкены мышечной ткани говядины.

Литература

1. Покровский А.А. и др. Метод определения и состав фракции алифатических углеводов подсолнечных, хлопковых, соевых масел и шротов. - Вопросы питания, 1979, 3, с.60.
2. Шталь Э. Хроматография в тонких слоях. - М., Мир, 1965.
3. Новицкая Г.В. Тонкослойная хроматография фосфолипидов. - Л., Наука, 1972.
4. Лазарев Е.Н., Герасимова В.А. Фосфолипиды куриных яиц. - Сб. научн. трудов ЛИСТ, вып. 63, 1977.
5. Жуков А.В., Верещагин А.Г. Физиология и биохимия культурных растений. - Т.2, вып. I, 1970, с.93.
6. Покровский А.А. и др. Метод выделения, идентификации и количественного определения алканов, циклоалканов, моноциклических аренов и сквалена в тканях животных. - Вопросы питания, 1978, 5, с.68.
7. Лазарев Е.Н. и др. Углеводороды мышечной ткани говядины. - Материалы XXII Европейского конгресса научных работников мясной промышленности, Вена, 1981, с.180.
8. Химия биологически активных природных соединений. Под ред. Н.А. Преображенского. - М., Химия, 1976.
9. Пюльман Б., Пюльман А. Квантовая биохимия. Пер. с англ. под ред. В.Л. Кретовича. - М., Мир, 1965.