

Кристаллообразование в растворах мышечных белков.

ВАСИЛЬЕВ А.И., ЖУРАВСКАЯ Н.К., КАУХЧЕШВИЛИ Э.И., ОСИПОВ С.Н.
Московский технологический институт мясной и молочной промышленности. Москва СССР.

Выполненное исследование имело целью разработку комбинированных мясопродуктов с высоким уровнем замены сырья молочно-белковым копреципитатом. Исследование стабильности свойств белковых систем при холодильной обработке проводилось в двух-процентных растворах мышечных и молочных белков в борратном буфере ($m=1,0$; $pH=7,4$). Образцы с начальной температурой плюс $18^{\circ}C$ помещались в криокамеру и замораживались при постоянной температуре. После полного прохождения границей раздела фаз всей длины криокамеры включалась в режим размораживания, которое проводилось при постоянной для всех экспериментов температуре плюс $25^{\circ}C$. По окончании размораживания и вымораживания температуры в образце при значении плюс $18^{\circ}C$ цикл замораживания повторялся. Количество циклов замораживания-размораживания определялось на основании предварительных экспериментов, показывающих, что кинетические характеристики и форма образующихся кристаллов льда при повторном замораживании отличны от результатов первого замораживания. Как правило видимые изменения формы кристаллов прекращались после трех-четырех повторов, а скорость перемещения границ раздела фаз стабилизировалась после четвертого повтора. Замораживание растворов белков проводилось при температурах минус $30, 50, 80^{\circ}C$. Оптическое наблюдение процесса кристаллообразования показало, что в растворе миофибрилярных белков при температуре минус $30^{\circ}C$ образуются кристаллы льда дендритной формы. При повторном замораживании в растворе наряду с дендритными кристаллами льда наблюдается появление игольчатых кристаллов. В третьем цикле замораживания наблюдается образование только игольчатых кристаллов льда и при этом перед фронтом появляются агрегаты белка, выделившегося из фазы раствора. Дальнейший повтор циклов замораживания-размораживания не приводит к каким бы то ни было визуально наблюдаемым изменениям в формировании кристаллической структуры льда. Изменения в форме кристаллов льда при замораживании раствора миофибрилярных и саркоплазматических белков наблюдается только в третьем цикле замораживания. В этом случае происходит формирование игольчатых кристаллов льда. Однако агрегатирование белков не происходит даже после шестикратного повтора циклов замораживания-размораживания. Что же касается кристаллообразования в растворах мышечных белков, содержащих молочный копреципитат, во всех шести повторах циклов наблюдаются только дендритные кристаллы льда (при минус $30^{\circ}C$).

Сложность рисунка кристаллов льда оценивалась с помощью выражения.

$$K_c = \frac{L}{\sqrt{K_c \cdot K_{sp}}}$$

где:

- L — суммарная длина границы кристаллов льда;
- n — количество кристаллов льда в кадре;
- K_c — площадь кадра;
- K_{sp} — суммарная поверхность кристаллов в кадре.

Как степень сложности рисунка кристаллов в растворах миофибрилярных белков при первом замораживании ($K_c=2,5+2,6$) меньше чем у кристаллов, образующихся в растворе миофибрилярных и саркоплазматических белков ($K_c=2,9+3,0$). Изменение соотношения миофибрилярных и глобулярных белков путем введения молочно-белкового копреципитата, приводит к образованию кристаллов льда широко развитой дендритной формы, при этом ($K_c=3,3+3,4$). Образование игольчатых кристаллов льда в растворе миофибрилярных белков дает основание полагать, что эти изменения в форме кристаллов льда после третьего замораживания обусловлены выделением белка из фазы раствора в виде агрегатов перед границей раздела фаз ($K_c=1,6+1,8$), а образование пика на графике скорости перемещения границы раздела может быть следствием частичного разрушения гидратных оболочек молекул белка и увеличения доли свободной влаги в системе (рис. 2). Сопоставление результатов, полученных на различных белковых системах, позволяет считать, что в растворе, содержащем миофибрилярные и саркоплазматические белки, образование игольчатых кристаллов в третьем цикле ($K_c=2,2+2,3$) и наличие пика на графике скоростей объясняется теми же причинами. Однако, в растворе преобладают глобулярные белки, а они претерпевают незначительные конформационные изменения и их связи с водой не разрушаются даже после шестикратного повтора циклов замораживания-размораживания. Увеличение в системе доли глобулярных белков за счет введения молочно-белкового копреципитата приводит к стабилизации форм кристаллов льда ($K_c=2,8+2,9$) и сглаживанию пика на графике скорости перемещения границы раздела фаз. При понижении температуры замораживания до минус $50^{\circ}C$ для раствора миофибрилярных белков характерно формирование дендритных кристаллов во всех шести циклах. С уменьшением температуры замораживания до минус $80^{\circ}C$ размер кристаллов уменьшается и возрастает сложность их рисунка без видимых изменений в форме кристаллов льда. Аналогичная картина наблюдается и при замораживании растворов мышечных белков с молочно-белковым копреципитатом. Наблюдения кристаллообразования в растворах мышечных белков, а также белков, содержащих молочный копреципитат, показывают, что для всех систем характерно образование дендритных кристаллов льда с широко развитой геометрией форм. Увеличение скорости перемещения границы

сдвига фаз лишь увеличивает степень сложности рисунка кристаллов и уменьшает их размер. Таким образом результаты структурно-кинетического анализа кристаллообразования в растворах белков разного качественного состава дают основание считать, что введение в систему молочно-белкового копреципитата повышает устойчивость системы к воздействию низких температур, с одной стороны. С другой стороны, можно полагать, что повышение интенсивности теплообвода приводит к увеличению устойчивости миофибриллярных белков /также как и глобулярных/.

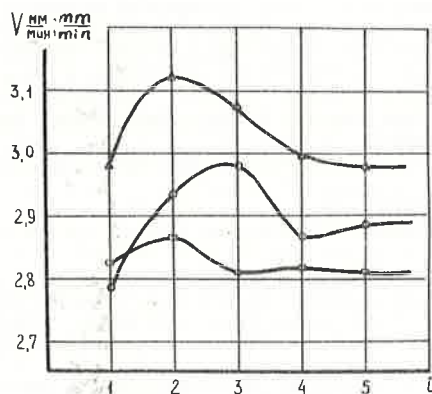


Рис. 1. Зависимость скорости перемещения границ раздела фаз от числа циклов замораживания-размораживания (при $t_3 = -30^\circ\text{C}$)

Fig. 1. Dependence of Speed of Transfer of Phase Interface on Cycle Number of Freezing-Defreezing (at $T = -30^\circ\text{C}$).

1. L.A. Abdedarskaya "Proton Relaxation in Contractile Protein Solutions", "Biophysics of Muscle Contraction" Moscow, 1966
2. C.F. Hazlewood, B.L. Nichols, N. Chamberlain.-Nature, 1969, Vol 222. p. 747-750.
3. N. Hanafusa, Low Temp. Sci., sev.Riol., 1962, 22, p. 119.
4. W. Hanafusa, Bull Inst. int. froid, 1973, N 5, annexe, p. 9.
5. V.I. Lugovoy, V.A. Moiseev "Low Temperature Influence on Soluble Enzymes", "Physico-chemical Mechanisms in the case of Damaged Biological Structures". Vol.9, p.53-79, 1978.