

Влияние кластерной структуры водно-этанольных смесей на липидное окисление, растворимость белков, рН и оптические характеристики мышечной ткани свинины

Орехова С.М.
Нечипоренко А.П.
sveta.orehova2012@yandex.ru

*Санкт-Петербургский национальный исследовательский университет
информационных технологий, механики и оптики
Институт холода и биотехнологий*

В данной работе представлены экспериментальные данные по исследованию измельченных (2,5 мм) образцов мышечной ткани свинины, прошедших предварительно обработку в цельнокусковом виде растворами этанола с варьируемой концентрацией (20, 40, 50, 75 %). После измельчения образцы герметизировались в ячейках полиэтиленовых планшетов и хранились анаэробно при +4°C. Показано, что содержание в контактном растворе 40 % этанола приводит к снижению липидного окисления образцов и растворимости белков в водно-солевых фракциях.

Ключевые слова: электронная спектроскопия диффузного отражения, мышечная ткань.

Введение

Ранее рассматривалось влияние обработки цельнокусковой мышечной ткани свинины растворами этанола разной концентрации на микробную обсемененность, кислотно-основные свойства поверхности измельченных образцов, хранившихся в аэробных условиях [1, 2] и оптические характеристики (метод ЭСДО) образцов, облученных быстрыми электронами [3, 4]. Показано, что концентрация этанола в контактных растворах существенным и закономерным образом влияет не только на все экспериментально контролируемые параметры, но и на характер порчи (гниение, брожение) образцов при их хранении.

По всем органолептическим, микробиальным и оптическим показателям оптимальной оказалась 40 % водно-этанольная смесь, мягко воздействующая на мышечную ткань свинины. Это обусловлено максимальным сжатием смесей, содержащих 40 – 50 % этанола [5], которое связано с образованием кластерных структур с соотношением молекул воды и этанола 5 : 1 [6 – 8]. Формирование в них более прочных водородных связей, чем собственно у

воды, приводит к тому, что оба растворителя взаимно нивелируют индивидуальные свойства друг друга.

В данной работе представлены экспериментальные данные по исследованию образцов, также прошедших в цельнокусковом виде предварительную обработку с варьируемой концентрацией этанола в контактном растворе, но хранившихся в анаэробных условиях. Помимо кислотности и оптических характеристик образцы исследовались на липидное окисление и фракционную растворимость белков биуретовым методом.

Экспериментальная часть

Объектом исследования служила мышечная ткань свинины (карбонад). Цельнокусковые образцы мышечной ткани обрабатывались растворами этанола с концентрацией 20, 40, 50, 75 % в течение 10 минут. Время обработки выбрано на основании предварительного эксперимента. Затем образцы подвергались механической реструктуризации на мясорубке (2,5 мм). После измельчения образцы герметизировались в ячейках планшетов из полиэтилена и хранились в течение суток при $+4\pm 2$ °С. Время хранения выбрано, с одной стороны, для сведения к минимуму начала возможных микробиальных и аутолитических процессов. А с другой стороны, – для стабилизации полученных систем с целью иметь возможность отследить проявление индивидуального воздействия использованных водно-этанольных смесей в условиях герметизации.

Липидное окисление образцов оценивали тиобарбитуровым методом по методике [9], выражая тиобарбитуровое число (ТБЧ) через единицы оптического поглощения при $\lambda = 535$ нм, полученного относительно холостого опыта.

Фракционный анализ на растворимость белков проводили биуретовым методом по методике [10]. Оптическую плотность окрашенных соединений измеряли при 550 нм. Кислотность водных суспензий образцов оценивали на рН-метре «Эксперт» со стеклянным электродом.

Электронные спектры поглощения поверхности образцов получали на спектрофотометре Specord M-200 в диапазоне длин волн 200 – 700 нм с компьютерной обработкой данных.

Обсуждение результатов

На рис. 1 приведены электронные спектры поглощения поверхности интактных образцов (контроли) измельченной мышечной ткани, хранившихся в аэробных (1) и анаэробных (2) условиях в течение суток при $+4\pm 2$ °С. Их сопоставление показывает, что результатом герметизации, в данном случае, являются, во-первых, деструктивные процессы белково-углеводного комплекса в средней Уф-области спектра. Это выражается в уменьшении интенсивности белковых полос (240, 260, 280 нм) и дифференциации полос поглощения углеводов (285, 295, 310 нм). При этом отмечается снижение поглощения в области дублета миоглобина (540/580 нм). Изменения сопровождаются батохромным смещением левой ветви мукополисахаридной полосы

(400 – 420 нм) и снижением поглощения в области липидных компонентов (325 – 360 нм).

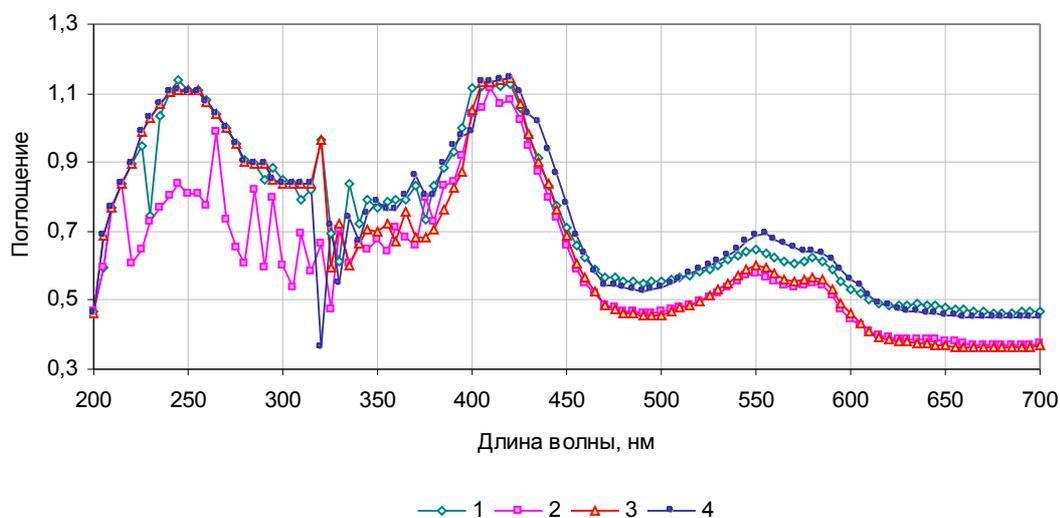


Рис. 1. Электронные спектры поглощения поверхности контрольных образцов мышечной ткани свинины. Условия хранения: 1 – аэробное; 2 – анаэробное; через неделю: 3 – образец (2), 4 – образец (1).

Однако через неделю хранения (кр. 3) УФ-фрагмент спектра герметизированного образца (2) полностью восстанавливается, что свидетельствует о возможных реконструктивных процессах, протекающих на поверхности частичек мышечной ткани. Последние, очевидно, возможны в случае обратимых конформационных изменениях белковых структур. Кривая 4, иллюстрирующая электронный спектр образца (1) через неделю хранения, показывает отсутствие каких-либо существенных изменений в УФ-части спектра. Они касаются в большей мере длинноволновой области – значительное падение поглощения при 320 нм, батохромный сдвиг правой ветви мукополисахаридной полосы и деформация дублета миоглобина. Для образца (2) в области поглощения пигментного белка спектральные кривые полностью совпадают. Через неделю хранения уровень поглощения в интервале 325 – 360 нм для каждого из образцов, в общем, изменяется менее заметно.

Рис. 2 представляет электронные спектры поверхности образцов измельченной мышечной ткани, прошедшей предварительную обработку в цельнокусковом виде растворами этанола разной концентрации. Из сопоставления приведенных кривых светопоглощения с кривыми 1 и 2 на рис. 1 видна скорее стабилизирующая, а не реконструктивная функция этанола по отношению к белково-углеводному комплексу, как «противостояние» условиям герметизации. Её роль возрастает с увеличением концентрации этанола. Только в спектрах образцов, обработанных 40% этанолом (кр. 2), присутствует отрицательный экстремум при 240 нм. Однако в остальном интервале длин волн (310-700 нм) наблюдаются существенные изменения, зависящие от концентрации этанола. Прежде всего, это касается области спектра, где поглощают липидные компоненты. Следует отметить значительное ушире-

ние полосы мукополисахаридов для образца, обработанного 50 % раствором. Изменения в области поглощения пигментного белка указывают на зависимость оптических характеристик поверхности мышечной ткани свинины от концентрации этанола не только вариацией величины оптической плотности, но и появлением полосы метмиоглобина (635 нм).

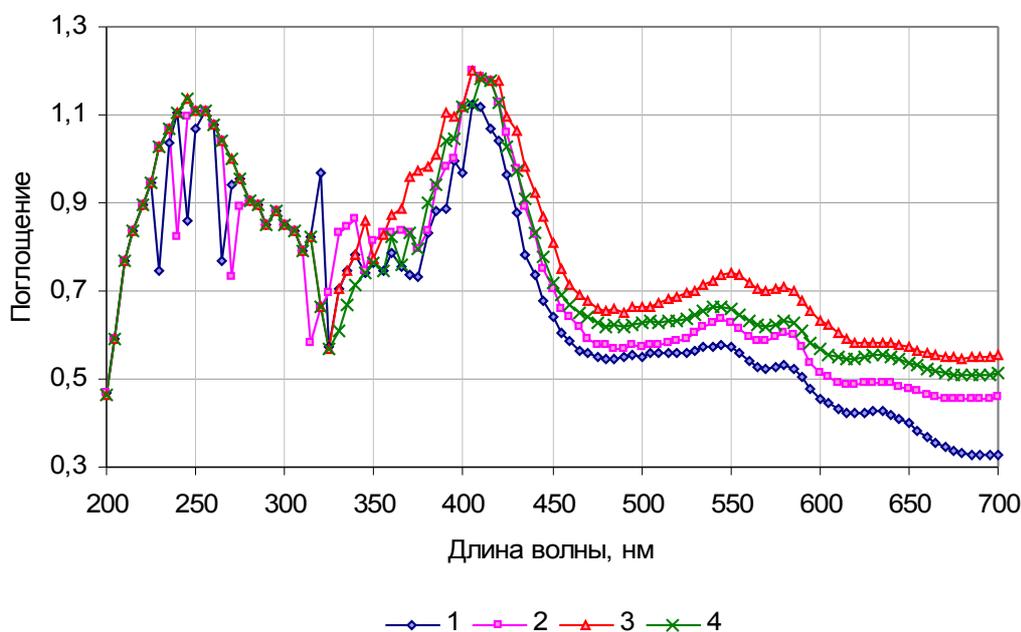


Рис. 2. Электронные спектры поглощения поверхности образцов мышечной ткани свинины, обработанной растворами этанола разной концентрации. 1 – 20; 2 – 40; 3 – 50; 4 – 75 %; время обработки – 10 минут.

Более наглядное представление о характере изменений в мышечной ткани свинины в течение суток дают зависимости (рис. 3) $A = f(\lambda, \text{нм}; \% \text{ этанола})$, построенные по экспериментальным данным, приведенным на рис. 2. Изменение поглощения белковых компонентов (240, 260, 280 нм) мышечной ткани от концентрации этанола, в общем, иллюстрируют стабилизирующую роль этанола. За нулевые точки приняты показатели поглощения контрольного образца, хранившегося аэробно (кр. 1, рис. 1). Эффект оптической стабилизации ультрафиолетового фрагмента спектра скорее всего обусловлен тем, что в данном диапазоне длин волн регистрируются только ароматические аминокислоты. Поглощение остальных аминокислот относится к области вакуумного ультрафиолета ($< 200 \text{ нм}$), недоступной для наблюдения в условиях эксперимента.

В отличие от белков изменение интенсивности полос для липидных компонентов достаточно индивидуально. Максимумы полос при 340 и 330 нм наблюдается в спектре образца, обработанного 40 %, а для полосы 360 нм – 50 % раствором этанола.

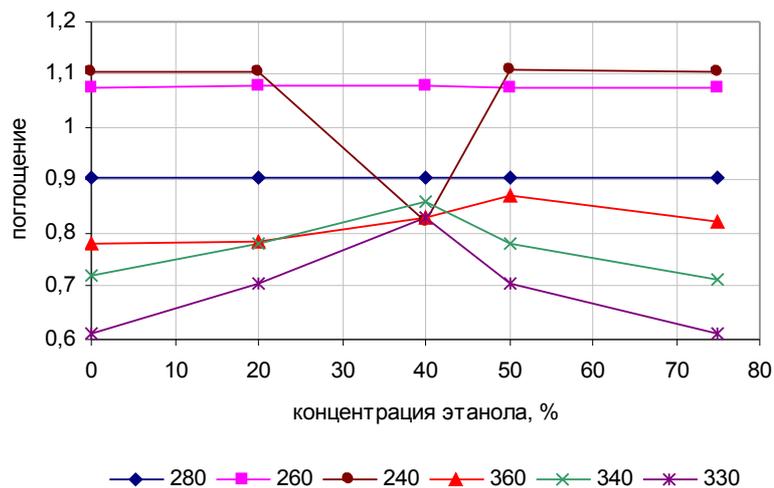


Рис. 3. Зависимость изменения оптической плотности полос белковых, липидных компонентов от концентрации этанола.

Обращает на себя внимание последовательность расположения представленных кривых по оси ординат, – поглощение возрастает с увеличением длины волны регистрируемой полосы, что коррелирует с увеличением числа двойных связей в молекулах жирных кислот. Кроме того, вариация поглощения для рассматриваемых полос липидных компонентов минимальна для образца, обработанного 40 % этанолом.

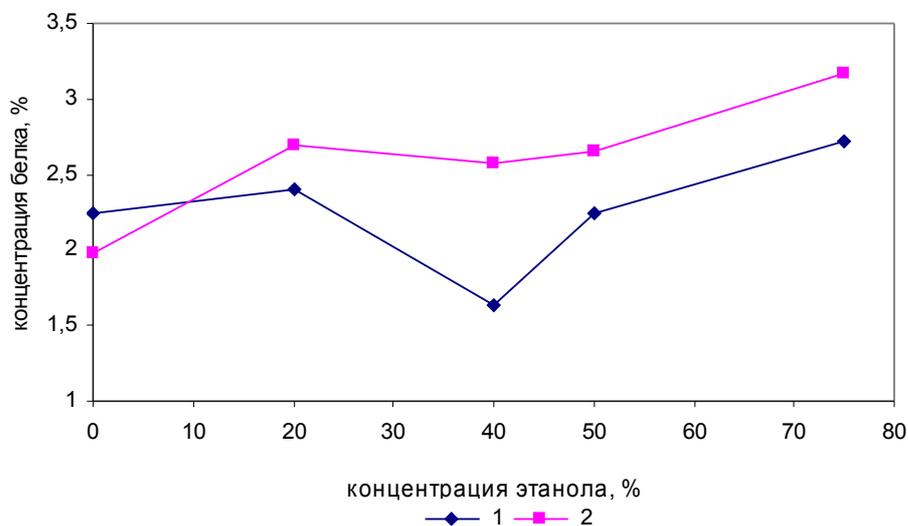


Рис.4. Фракционный анализ по растворимости белков образцов измельченной мышечной ткани свинины в зависимости от концентрации этанола: 1 - саркоплазматические белки; 2 - фибриллярные белки.

Кривые, представленные на рис. 4, подтверждают высказанное выше предположение и позволяют отметить заметные изменения растворимости белков при варьировании концентрации этанола в контактном растворе, как саркоплазматических (1), так и фибриллярных (2). При общей для обеих фракций тенденции роста растворимости с увеличением концентрации этано-

ла, обе зависимости показывают минимум для образца, обработанного 40 % раствором этанола. Особенно это заметно для водорастворимых белков, что может указывать на защитную (стабилизирующую) функцию кластерной структуры водно-этанольной смеси данного состава для белков саркоплазмы. Это дает основание предполагать, что более определенную информацию можно получить при оптическом исследовании поверхности мышечного волокна и анализе водных вытяжек на аминокислотный состав.

На рис. 5 представлены экспериментальные данные, которые указывают на зависимость от концентрации этанола в контактном растворе липидного окисления и кислотности измельченных образцов мышечной ткани свинины. Определение ТБЧ (1) для данной серии образцов показало нелинейное снижение липидного окисления с увеличением концентрации этанола. Примечательно, что точка перелома на зависимости ТБЧ = f (% этанола) отвечает 40 % раствору этанола. Изменение pH водных суспензий образцов (2) при этом носит экстремальный характер, но минимум фиксируется при 40 %. Однако при хранении образцов для обоих параметров этот порядок меняется вследствие различия биохимических процессов в мышечной ткани, инициируемых растворами этанола разной концентрации.

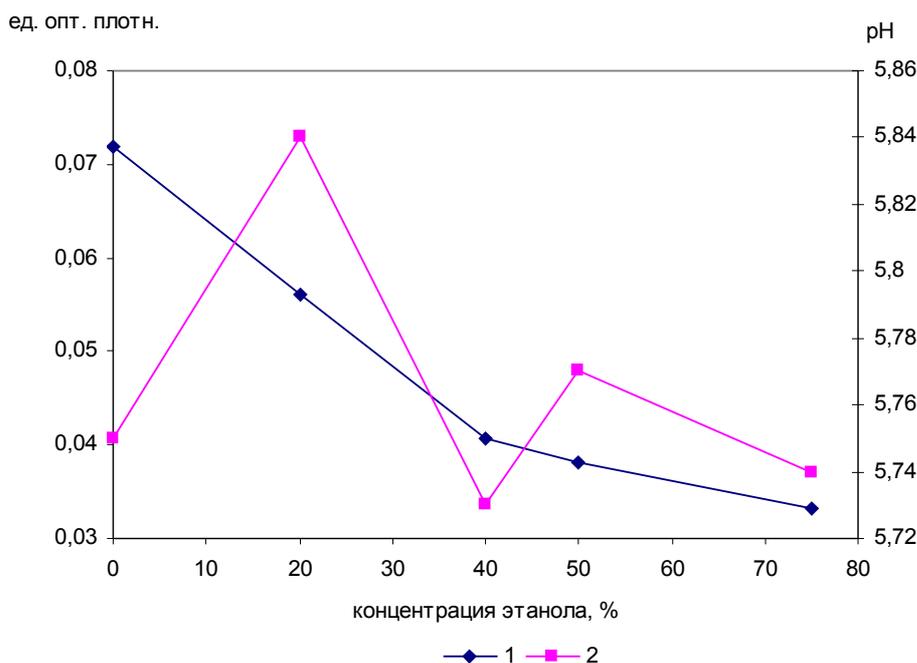


Рис. 5. Зависимость липидного окисления и кислотности образцов мышечной ткани свинины от концентрации этанола в контактном растворе.
1 – ТБЧ; 2 – pH.

Анализируя совокупность данных, представленных на рис. 3 – 5, можно отметить, что резкое снижение липидного окисления при обработке растворами этанола ниже 40 % приводит к росту оптической плотности всех липидных полос (рис. 3). Однако при использовании растворов этанола с концентрацией выше 40 %, где также, хотя и менее резко, наблюдается сни-

жение липидного окисления, оптическая плотность всех, регистрируемых для липидных компонентов, полос падает. Увеличение растворимости белков обеих фракций (рис. 4) и характер изменения кислотности (рис. 5) указывают на то, что при водно-этанольной обработке (в рассматриваемом концентрационном диапазоне) цельнокусковой мышечной ткани свинины, в измельченных образцах при обработке растворами этанола ниже и выше 40 % преобладают разные биохимические процессы, как по белковым, так и липидным компонентам. В отношении липидов можно сказать, что, если при низких концентрациях этанола (до 40 %) доминируют процессы снижения (подавления) липидного окисления, то при более высоких – разрушение липидов.

Выводы

1. При исследовании методом ЭСДО в средней УФ-области электромагнитного спектра обращено внимание на то, что герметизация измельченных образцов мышечной ткани свинины, предварительно обработанной растворами этанола разной концентрации в цельнокусковом виде, приводит к стабилизации белково-углеводного комплекса.

2. Отмечено, что с увеличением концентрации этанола имеет место нелинейное снижение липидного окисления мышечной ткани свинины. Перегиб на полученной зависимости $TBC = f(\lambda, \text{нм}; \% \text{ этанола})$ приходится на раствор, содержащий 40 % этанола.

3. Показано, что минимум кислотности и растворимости саркоплазматических и фибриллярных белков также наблюдаются для образца, прошедшего обработку 40 % раствором этанола.

Список литературы

1. Орехова С.М. Влияние этанола и электронно-лучевой обработки на кислотность мышечной ткани свинины. / С.М. Орехова, У.Ю. Нечипоренко, И.В. Васильева, А.П. Нечипоренко // Научный журнал СПб НИУ ИМТО [Электронный ресурс]. – Санкт-Петербург: СПб НИУ ИТМО, 2012. - №1. – март. – Режим доступа: open-mechanics.com/welcome

2. Orehova S., Nechiporenko U, Vasileva I., Nechiporenko A. Ethanol effect on the radiolysis of pork muscle tissue. In Proceedings of 6th Baltic Conference on Food Science and Technology Foodbalt 2011. «Innovation for food science and production». Latvia, Jelgava, May 5-6, 2011, pp. 177-181.

3. Orehova S., Nechiporenko U., Vasileva I., Nechiporenko A. Ethanol concentration effect on the radiolysis in pork muscle tissue. In Proceedings of 5th international Conference «On the quality and safety in food production chain». Wrocław, September 19-20, 2011, pp. 114.

4. Orehova S., Nechiporenko U., Inna Vasileva I., Nechiporenko A. Ethanol concentration effect on the surface acidity and optical spectrum of radiated pork muscle tissues. In Proceedings of 7th Baltic Conference on Food Science and Technology Foodbalt- 2012. «Innovation and healthy food for consumers». Kaunas, May 17-18, 2012, pp. 166.

5. «Рассуждение о соединении спирта с водой», представленное в Физико-математический факультет И.С.-Петербургского университета Д. Менделее-

вым для получения степени доктора химии. СПб.: Типография товарищества «Общественная польза», 1865, 120 с.

6. Зеленин Ю.М. Влияние давления на клатратообразование в системе вода-этанол. //Журнал структурной химии, 2003, т.44, №1, с. 155-161.

7. Пацаева С.В. Подлинная жизнь водно-спиртовых растворов. // Химия и жизнь, 2010, №5, с. 41-43.

8. Буряков С.А., Доленко Т.А., Пацаева С.В., Южаков В.И. Диагностика водно-этанольных растворов методом комбинационного рассеяния света. // Оптика атмосферы и океана, 2009, т. 22, №11, с.1082-1088.

The influence of cluster structure of water-ethanol mixtures on lipid oxidation, solubility of protein, pH and optical characteristics of pork muscle tissue

Svetlana Orehova, Alla Nechiporenko

*St.–Petesrburg National Research University of Information Technology,
Mechanics and Optics
Institute of Refrigeration and Biotechnologies*

In this investigation we study minced pork muscle tissue (2.5 mm) from full-piece samples pretreated by 20, 40, 50, 75% ethanol solutions. After mincing samples were germetically sealed and preserved airproof at +4°C. We indicated by chemical methods that pretreatment by 40% ethanol lead to the decrease of lipid oxidation and solubility of protein in water-salt fractions.

Keywords: optical diffuse reflection, muscle tissue.