

Научная статья

УДК 543.424/57.013

DOI: 10.17586/2310-1164-2021-14-1-3-14

## Фурье-спектроскопия саркоплазматических, миофибриллярных и соединительнотканых белков мышечной ткани свинины

А.П. Нечипоренко\*, С.М. Орехова, В.Е. Ситникова, Д.А. Громова, А.В. Бушуева, М.В. Успенская

*Университет ИТМО, Санкт-Петербург, Россия*

\*allanech2512@yandex.ru

**Аннотация.** Методом ИК спектроскопии нарушенного полного внутреннего отражения проведено исследование белков саркоплазмы, актомиозинового комплекса и стромы мышечной ткани свинины, выделенных последовательной водной, солевой (раствор Вебера) и щелочной (0,6 М NaOH) экстракцией. Осаждение саркоплазматических и миофибриллярных белков из экстрактов проводили трехкратным избытком 96% этанола или 5% раствором трихлоруксусной кислоты. Соединительнотканые белки получали удалением мукополисахаридного комплекса из стромы щелочной обработкой. Показано спектральное различие глобулярных и миофибриллярных белков, обусловленное природой осаждающих реагентов, позволяющих дифференцировать полосы поглощения глобулярных белков саркоплазмы – альбуминов (1620 см<sup>-1</sup>) и глобулинов (1652 см<sup>-1</sup>) – и белков актомиозинового комплекса – актина и миозина (1623 и 1660 см<sup>-1</sup> соответственно). Пептиды, выделенные из надосадочных растворов этанолом после отделения центрифугированием белков, осажденных трихлоруксусной кислотой, всегда проявлялись в области 1590 см<sup>-1</sup>. Колебательные спектры сухих образцов протеинов получали на спектрометре Tenzor-37 в диапазоне волновых чисел 4000–600 см<sup>-1</sup>. Сравнительное использование разных способов сушки (воздушная, СВЧ, сублимационная) показало необходимость учета компонентного состава исходного материала и совместимости природы осадителя и метода сушки при производстве продуктов целевого назначения для конкретной сферы потребления.

**Ключевые слова:** спектральный анализ; инфракрасная спектроскопия; экстракция; осаждающий реагент; методы сушки; белки мышечной ткани свинины

Original article

### Fourier spectroscopy of sarcoplasmic, myofibrillar, and connective tissue proteins of pork muscle tissue

Alla P. Nechiporenko\*, Svetlana M. Orekhova, Vera E. Sitnikova,

Diana A. Gromova, Anastasia V. Bushueva, Maya V. Uspenskaya

*ITMO University, St. Petersburg, Russia*

\*allanech2512@yandex.ru

**Abstract.** The study of sarcoplasmic proteins, actomyosin complex, and stroma of pork muscle tissue isolated by sequential water, salt (Weber's solution), and alkaline (0.6 M NaOH) extraction was performed using IR spectroscopy of disturbed total internal reflection. Sarcoplasmic and myofibrillar proteins were precipitated from the extracts with a three-fold excess of 96% ethanol or 5% trichloroacetic acid solution. Connective tissue proteins were obtained by removing the mucopolysaccharide complex from the stroma by alkaline treatment. The spectral difference between globular and myofibrillar proteins due to the nature of precipitating reagents which allow differentiating the absorption bands of sarcoplasmic globular proteins – albumins (1620 cm<sup>-1</sup>), globulins (1652 cm<sup>-1</sup>), and actomyosin complex proteins – actin and myosin (1623 and 1660 cm<sup>-1</sup>, respectively) – is shown. Peptides isolated from supernatants with ethanol after separation by centrifugation of proteins precipitated with trichloroacetic acid always appeared in the region of 1590 cm<sup>-1</sup>. Vibrational spectra of dry protein samples were obtained using Tenzor-37 spectrometer in the wave number range of 4000–600 cm<sup>-1</sup>. Comparative use of different drying methods (air, microwave, and freeze-drying) demonstrated the need to take into account component composition of the source material and the compatibility of the nature of the precipitator and the drying method in the production of target products for a specific sphere of consumption.

**Keywords:** spectral analysis; infrared spectroscopy; extraction; precipitating agent; drying methods; pork muscle tissue proteins

## Введение

Белки, составляя основу биологической жизни, присутствуют без исключения во всех животных (от микроорганизмов до человека) и растительных организмах. Мышцы, кости, покровные ткани, внутренние органы, хрящи, шерсть, кровь – все это белковые вещества. Функции белков в живом организме универсальны и разнообразны и определяются  $\alpha$ -аминокислотным составом и строением их макромолекул. Белки служат питательными веществами, строительным материалом для мышц, сухожилий, клеточных стенок, мембран, исполняют роль ферментов – катализаторов обмена веществ, способных замедлять и ускорять биохимические реакции. Обладая сигнальной функцией, белки помогают органам, тканям и клеткам обмениваться генетической информацией и т.д. [1, 2].

Очевидно, что животные белки в составе мяса и продуктов их производства, наряду с растительными, являются, прежде всего, основой питания. На практике подавляющее большинство пищевых производств находят животным белкам самое разное применение – в виде белково-жировых эмульсий, гель-формы, в сухом виде в процессе куттерования мясного сырья с последующим внесением в него воды для необходимой степени гидратации и пр. [3–5].

Применяются они в кожевенной, текстильной промышленности, ветеринарии, сельском хозяйстве как продукция кормового белка. В последние десятилетия биопрепараты животного происхождения нашли широкое практическое применение в отечественной биофармацеи и клинической медицине при кровопотерях, нарушении мозгового кровообращения, умственной отсталости, потере памяти [6–9].

Чаще всего используют препараты, приготовленные из сыворотки или плазмы крови животных (таблица). Содержание белковых фракций в сыворотке крови, а значит и в плазме, как видно из таблицы, хотя и находится в определенных интервалах, заметно отличается в зависимости от вида животного организма и у разных авторов.

Таблица – Содержание белковых фракций в сыворотке крови животных, % от общего количества белка  
Table – Protein fraction content in animal blood serum, % of general protein content

Вид животного и человек	Альбумины	Глобулины		
		альфа-	бета-	гамма-
лошади	32,4	17,0	23,0	27,6
крупный рогатый скот	44,0	14,0	18,0	24,0
овцы	39,0–43,0	18,0–22,0	25,0–30,0	10,0–15,0
свиньи	39,0–49	15,0–24,0	10,0–18,0	15,0–30,0
человек	50,0–70,0	12,0–21,0	8,0–18,0	15,0–25,0

Иногда применяют и сыворотки людей, переболевших тем или иным инфекционным заболеванием. В сыворотках сохранена большая часть уже готовых антител, способных бороться с возбудителями разных болезней. Ее используют для получения различных препаратов, которые обладают лечебными свойствами (антибактериальные, противовирусные, антитоксические и др.). Препараты, созданные на основе глобулярных белков сывороток крови, позволяют получать их иммунные разновидности, применяющиеся при диагностике, профилактике, вакцинации и терапии различных инфекционных заболеваний. Основой лечебной продукции являются белки и физиологически активные вещества, которые позволяют изготавливать белковые кровезаменители, белковые гидролизаты, вакцины, иммуноглобулины и др. [10–12].

В последние годы исследователи проявляют интерес к миофибриллярным белкам, белкам стромы животных тканей и их полисахаридным комплексам, которые нашли применение при лечении мукополисахаридозов, артрозов и заболеваний опрото-двигательного аппарата [13–15]. Производство лечебных препаратов на базе тканей и сывороток крови животных основано на выделении и разделении белковых фракций. Для этих целей известно несколько методов: осаждение водно-спиртовыми растворами при низкой температуре, растворами нейтральных солей (высаливание) разных концентраций –  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ,  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  и др., ионообменная, адсорбционная, распределительная, гель-хроматография [16, 17]. Однако за основу в исследовательской практике принят наиболее распространенный экспресс-метод электрофоретического разделения на бумаге или ацетатцеллюлозных

пленках, основанный на разной скорости движения белков в электрическом поле, в зависимости от величины заряда и молекулярной массы [18].

Цель данной работы – исследование методом инфракрасной спектроскопии нарушенного полного внутреннего отражения (ИКС НПВО) саркоплазматических (глобулярных), контрактильных (миофибриллярных) и белков стромы (коллагена, эластина) в зависимости от природы осаждающего реагента и способа сушки.

### Объекты и методы исследования

Объектами исследования служили глобулярные белки саркоплазмы (альбумины, глобулины), миофибриллярные актомиозинового комплекса (актин, миозин, тропомиозин) и соединительнотканые белки (коллаген, эластин) мышечной ткани свинины. После препарирования и двукратного механического измельчения ( $d = 2,5$  мм) свежее охлажденной мышечной ткани (длиннейшая мышца спины) последовательное выделение разных категорий белков проводили по схеме [17, 19]:

✓ саркоплазматические белки выделяли водной экстракцией мышечной ткани ( $m = 10$  г), гидромодуль 1:10 в течение 2–3 ч при непрерывном перемешивании на магнитной мешалке и отделяли надосадочный раствор–экстракт центрифугированием;

✓ миофибриллярные белки (актин, миозин, тропомиозин) экстрагировали в течение 2–3 ч 10% раствором NaCl (раствор Вебера) из мышечного волокна, после удаления из него остаточных белков саркоплазмы промыванием до прозрачных вод;

✓ соединительнотканые белки получали извлечением мукополисахаридной составляющей 0,6 М раствором NaOH из стромы, оставшейся после экстракции актомиозинового комплекса; остаток студнеобразных белков стромы отмывали водой от щелочного реагента;

✓ осаждение глобулярных и миофибриллярных белков из экстрактов проводили трехкратным избытком 96% этанола или 5% раствора трихлоруксусной кислоты (ТХУК) [16, 20], выдерживали систему 30–40 мин на холоде для агрегации белка и отделяли осадки от надосадочных растворов центрифугированием.

Все влажные осадки белков сушили: 2–3 ч в термостате (40–45°C) и 3–4 мин в СВЧ-печи [21] марки Samsung (500 Вт) на предметных стеклах; 72 ч лиофилизировали в эппендорфах при температуре –30°C и давлении вакуума 165 Па с использованием сублимационной сушки Triad 7400030 (Labconco, США) [22]. В данной экспериментальной серии дополнительно использована воздушная сушка при комнатной температуре (20–22°C), как наиболее мягкий способ. Для этого 1–2 капли образца помещали на элемент НПВО предметного столика спектрофотометра и сушили 20–30 мин с периодической (через 10–5–3 мин) записью серии спектров до полной стабилизации их параметров. После высыхания пленку образца фиксировали прижимным устройством и записывали последний рабочий спектр.

Колебательные спектры (32 скана) сухих и влажных образцов белков и их экстрактов получали методом Фурье-спектроскопии на спектрофотометре Tensor 37 (Bruker, Германия) в диапазоне волновых чисел 4000–600  $\text{см}^{-1}$  [23, 24].

### Результаты и их обсуждение

На рисунке 1а представлены ИК спектры водного экстракта саркоплазматических веществ измельченной мышечной ткани свинины и солевого экстракта мышечного волокна, высушенных при 20°C. В спектрах обоих экстрактов в области 1700–1500  $\text{см}^{-1}$  присутствуют полосы – Амид-I (1640–1665  $\text{см}^{-1}$ ) и Амид-II (1535–1545  $\text{см}^{-1}$ ), характерные для белковых структур [23, 24]. Их более высокая интенсивность в спектре солевого экстракта говорят о более высокой суммарной концентрации миофибриллярных белков актомиозинового комплекса. Однако, в отличие от водного экстракта, в его спектре отмечено отсутствие полисахаридных (1031  $\text{см}^{-1}$ ) и низкое содержание липидных (1748  $\text{см}^{-1}$ ) компонентов. Наличие полос высокой интенсивности в области 3000–2850  $\text{см}^{-1}$ , обусловленных валентными асимметричными и симметричными колебаниями  $\text{CH}_2$ -групп, подтверждает значительное содержание липидных компонентов в водном экстракте. А слабая полоса при 3008  $\text{см}^{-1}$ , которая принадлежит валентным колебаниям  $\text{CH}$ -групп при двойной связи ( $\text{CH}=\text{CH}$ ), говорит о том, что в их составе присутствуют ненасыщенные жирные кислоты. Рисунок 1б представляет фрагменты спектров

протеиновой области водного и солевого экстрактов, соответственно, из мышечной ткани и мышечного волокна свинины. Спектр водного экстракта, лежащий существенно ниже, имеет деформированную первую амидную полосу в отличие от ее симметричного контура в спектре солевого экстракта ( $1652\text{ см}^{-1}$ ). Согласно литературным данным [3], усредненное содержание миофибриллярных белков в мышечной ткани составляет 45%, саркоплазматических – 35%, а белков стромы – 20%.

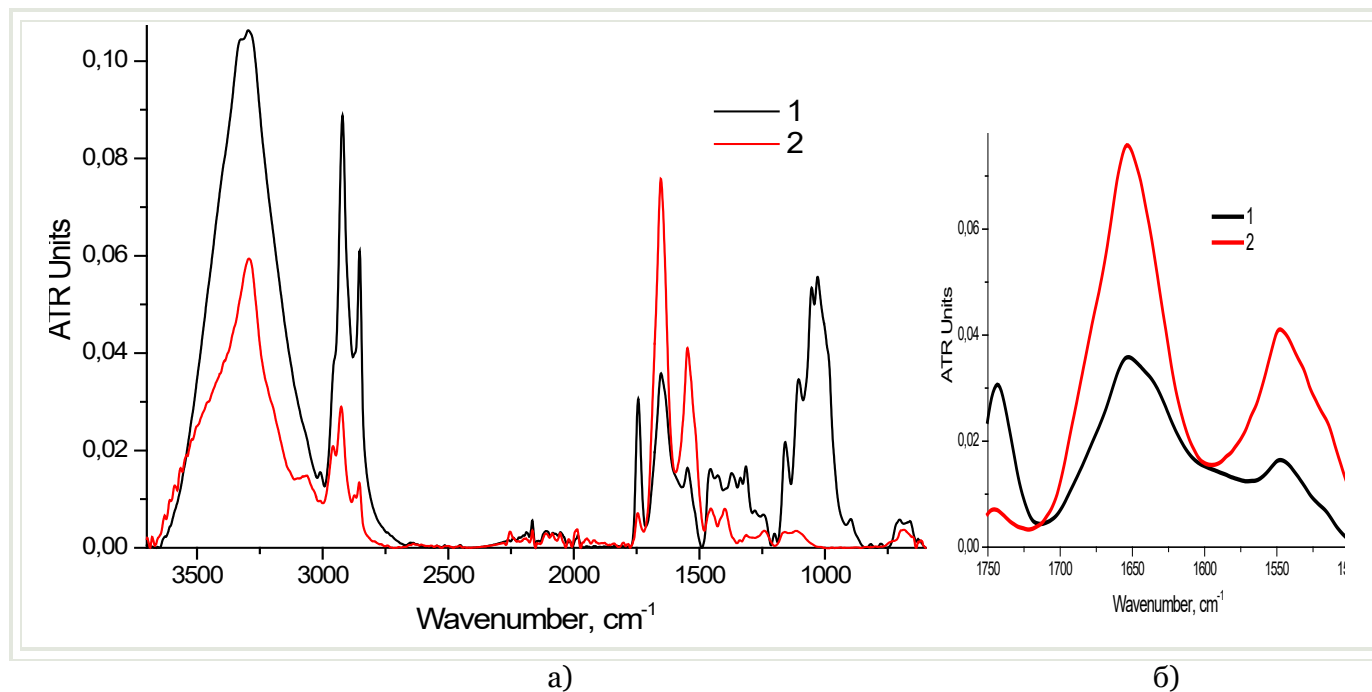


Рисунок 1 – а) ИК спектры водного (1) экстракта мышечной ткани и солевого (2) экстракта мышечного волокна свинины, высушенных при  $20^{\circ}\text{C}$ ; б) фрагменты протеиновой области спектров  
 Figure 1. IR spectra of aqueous (1) muscle tissue extract and salt (2) pork muscle fiber extract dried at  $20^{\circ}\text{C}$ ; б) fragments of the protein region of the spectra

Для обратимого осаждения белков из жидких биологических тканей и экстрактов чаще всего используют водоотнимающие средства (этанол, изопропиловый спирт, ацетон и др.) [16, 17]. Понижая степень гидратации без изменения заряда белков, они способствуют их осаждению без признаков денатурации, однако совместно с белками при этом осаждаются и полипептиды. Кроме того, почти все органические растворители могут разрывать белок-липидные связи, способствуя тем самым и их выделению. В результате обратимости процесса осаждения белки снова могут быть переведены в исходное состояние растворением их осадков в воде. Специфическим реагентом на белки является трихлоруксусная кислота (ТХУК). Нейтрализуя заряд, и тем самым способствуя и дегидратации, ТХУК необратимо осаждаёт белки и не затрагивает, оставляя в растворе, продукты их деструкции – полипептиды.

На рисунке 2 приведены спектры водного экстракта мышечной ткани свинины и выделенных из него саркоплазматических белков осаждением трехкратным избытком 96% этанола. Выделение саркоплазматических белков при этом, как следует из сопоставления спектров, происходит в виде липид-протеиновых комплексов, о чем свидетельствуют полосы липидов при  $3008$ ;  $1748$  и  $1160\text{ см}^{-1}$  и отсутствие полисахаридной полосы, хорошо проявленной в спектре экстракта ( $1031\text{ см}^{-1}$ ). О наличии липидных структур в полученном осадке говорят и интенсивные полосы асимметричных и симметричных колебания  $\text{CH}_2$ -группировок в области  $3000$ – $2850\text{ см}^{-1}$ .

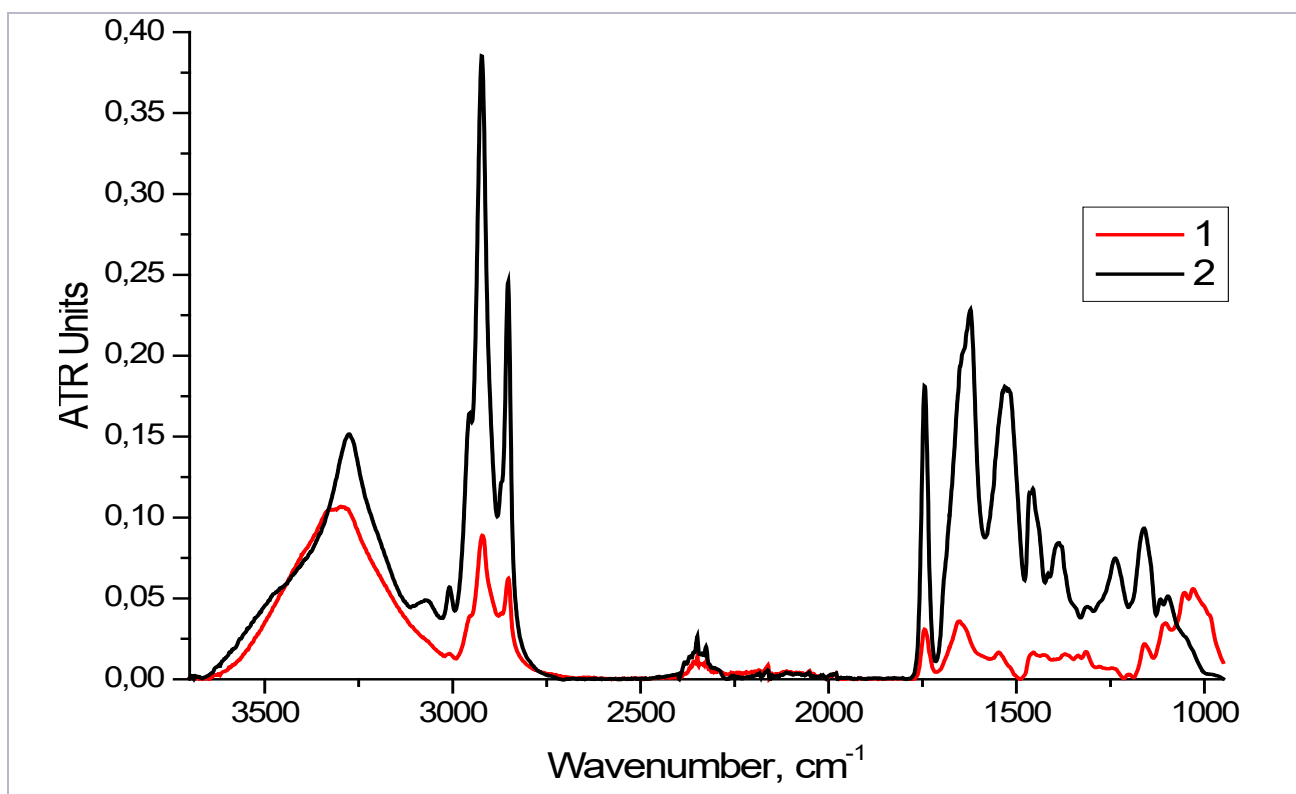


Рисунок 2 – ИК спектры высушенных при 20°C: 1 – водного экстракта; 2 – саркоплазматических белков, осажженных этанолом

Figure 2. IR spectra of dried at 20°C: 1 – water extract; 2 – sarcoplasmic proteins precipitated by ethanol

Спектр пептидов, выделенных этанолом из надосадочного раствора после отделения саркоплазматических белков ТХУК и высушенных при 20°C, представлен сложной полосой (рисунок 3, кривая 2) с типичным для них максимумом при 1590 см<sup>-1</sup> и плечом в области 1660 см<sup>-1</sup>. Это указывает на разную длину полипептидных цепочек, скорее всего связанных с липид-полисахаридным комплексом, о чем говорят слабые полосы в области 1748 и 1200–1000 см<sup>-1</sup>. А форма высокочастотной полосы свидетельствует о наличии в их структуре связанной воды.

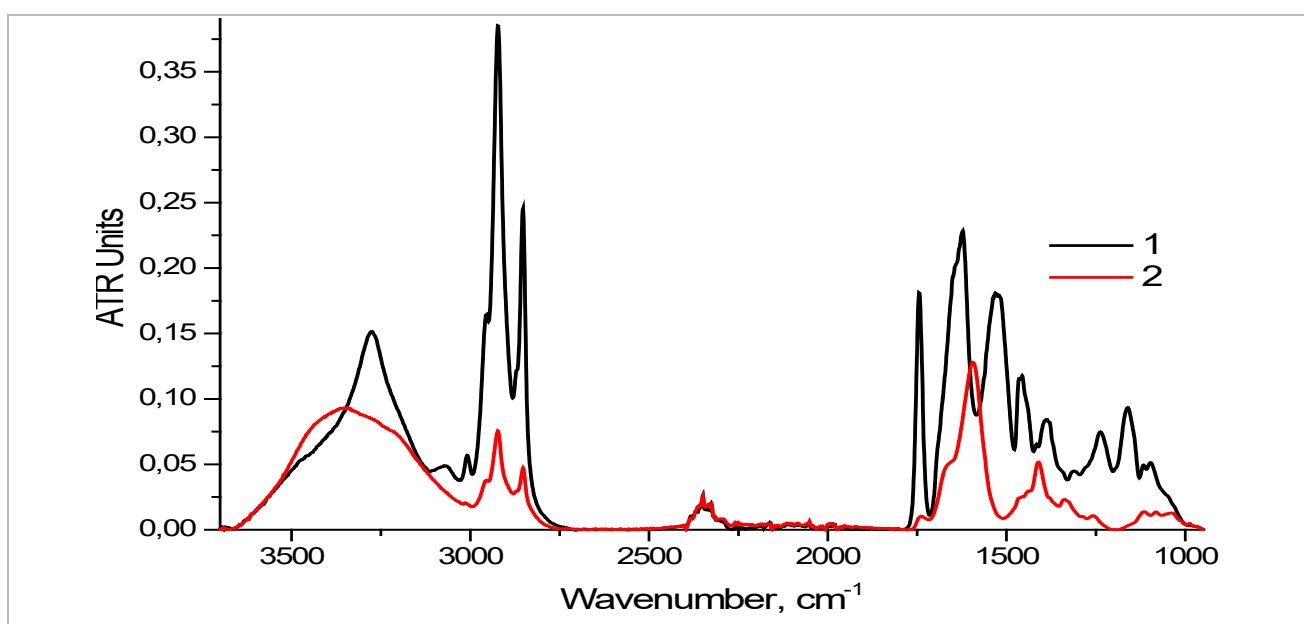


Рисунок 3 – ИК спектры саркоплазматических белков мышечной ткани, осажженных ТХУК (1) и пептидов, выделенных этанолом из надосадочного раствора

Figure 3. IR spectra of sarcoplasmic muscle tissue proteins precipitated by THUC (1) and peptides isolated by ethanol from the supernatant solution



Влияние природы осадителя на ИК спектр саркоплазматических белков, осажденных из водного экстракта мышечной ткани 96% этанолом и 5% ТХУК и высушенных при 20°C, показано на рисунке 4а. Заметное различие в спектральных характеристиках осадков белков, говорит о разной структуре их агломератов, полученных двумя разными по природе и механизму действия осадителями. В образце, полученном осаждением этанолом, существенно больше липидных компонентов. Об этом говорят все те же полосы 1748; 3008 и сложная полоса в виде «трезубца» с максимумом 1160 см<sup>-1</sup>, характеризующая колебания С-О-групп жирных кислот липидных компонентов.

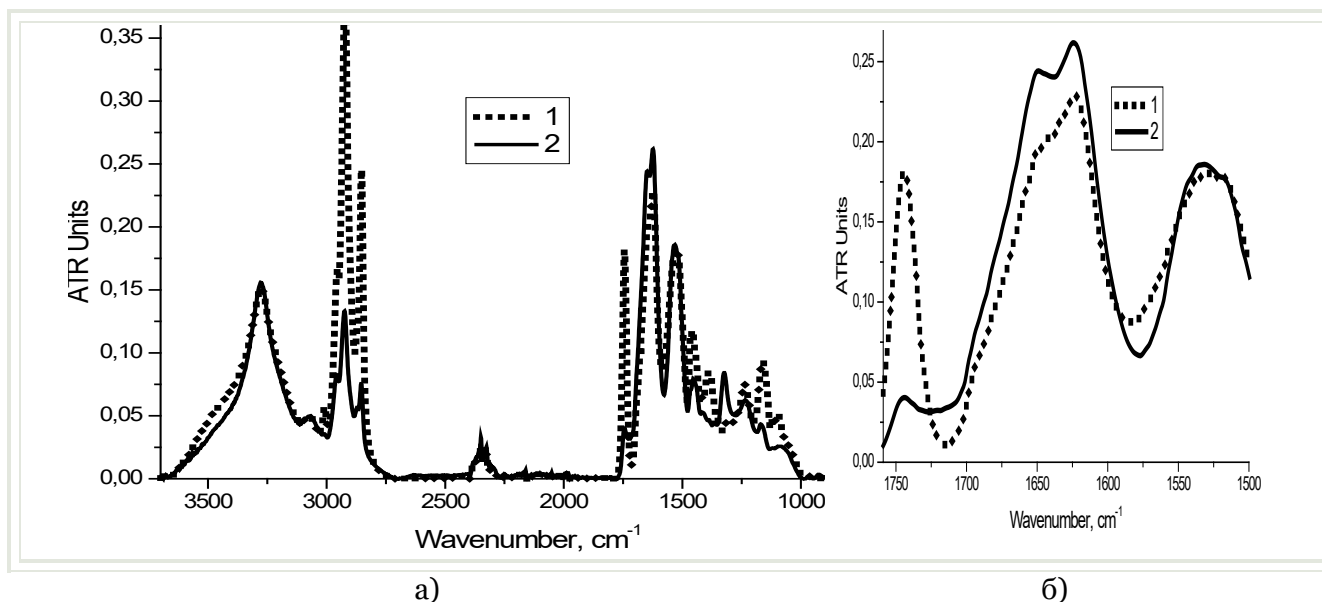


Рисунок 4 – а) ИК спектры саркоплазматических белков мышечной ткани, осажденных: 1 – этанолом, 2 – ТХУК; б) Фрагменты протеиновой области ИК спектров  
 Figure 4. a) IR spectra of sarcoplasmic muscle tissue proteins deposited with: 1 – ethanol, 2 – THUC; б) Fragments of the protein region of the IR spectra

В спектрах обоих образцов практически отсутствуют полисахариды. Протеиновые фрагменты спектров, представленных на рисунке 4б, позволяют отметить, что при достаточно близкой интенсивности их полосы Амид-I заметно различаются по форме в зависимости от природы осаждающего реагента. Полоса Амид-I в спектре образца, полученного осаждением этанолом и представляющего пул саркоплазматических белков и пептидов, присутствующих во всех биологических тканях, многократно структурирована, но положение максимума (1652 см<sup>-1</sup>) указывает на преобладание в нем глобулинов. Более четкое спектральное разделение альбуминов (1620 см<sup>-1</sup>) и глобулинов (1650 см<sup>-1</sup>) позволяет наблюдать их осаждение ТХУК с отделением от пептидов, что отвечает более четкой дифференциации двух максимумов в составе полосы Амид-I.

ИК спектры саркоплазматических и миофибриллярных белков, выделенных из водного и солевого экстрактов соответственно осаждением этанолом и высушенных при 20°C, сведены на рисунке 5а. В области поглощения карбонильных и амидных группировок спектр белков актомиозинового комплекса расположен существенно выше, а наличие высокого структурированного плеча на высокочастотной полосе в области 3400 см<sup>-1</sup> говорит о заметном содержании в их структуре связанной воды. При значительной разнице в интенсивности протеиновых полос (рисунок 5б) в спектрах саркоплазматических и миофибриллярных белков, осажденных этанолом, они достаточно близки по форме. Однако в спектре саркоплазматических белков, в отличие от актомиозина, присутствуют полосы, указывающие на наличие в них липидных компонентов (1160 см<sup>-1</sup>).

Следует обратить внимание на существенные различия в интенсивности и форме высокочастотной полосы (3500–3000 см<sup>-1</sup>) в спектрах глобулярных и миофибриллярных белков. Это различие неизбежно сохраняется во всех случаях при воздушной сушке образцов независимо от природы осаждающего реагента.

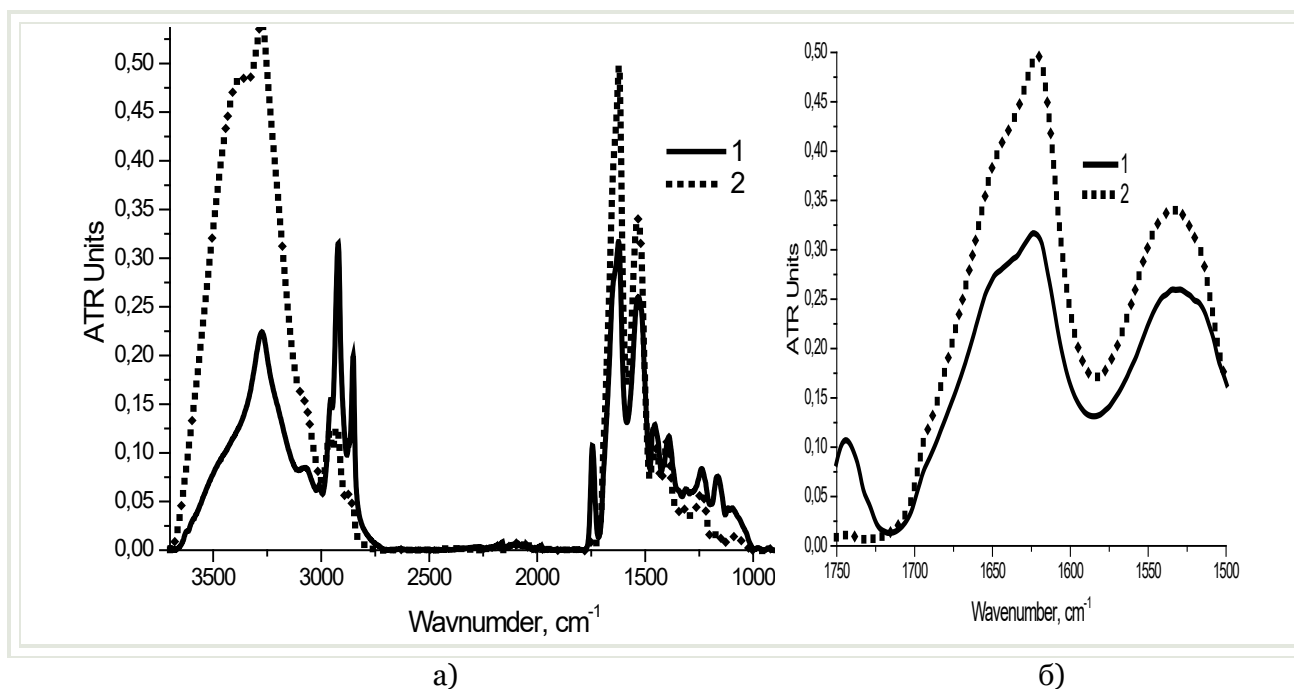


Рисунок 5 – а) ИК спектры саркоплазматических (1) и миофибриллярных (2) белков, осажденных этанолом и высушенных при 20°C; б) фрагменты протениновой области (1750–1500 см<sup>-1</sup>)

Figure 5. a) IR spectra of sarcoplasmic (1) and myofibrillar (2) proteins deposited with ethanol and dried at 20°C; б) fragments of the protein region (1750-1500 cm<sup>-1</sup>)

Сопоставление спектров саркоплазматических и миофибриллярных белков, осажденных ТХУК (рисунок 6), показывает, что несмотря на отсутствие в обоих образцах пептидных компонентов, дифференциация максимума полосы Амид-I в спектре миофибриллярных белков в отличие от глобулярных лишь намечается. Но в их структуре регистрируется связанная вода.

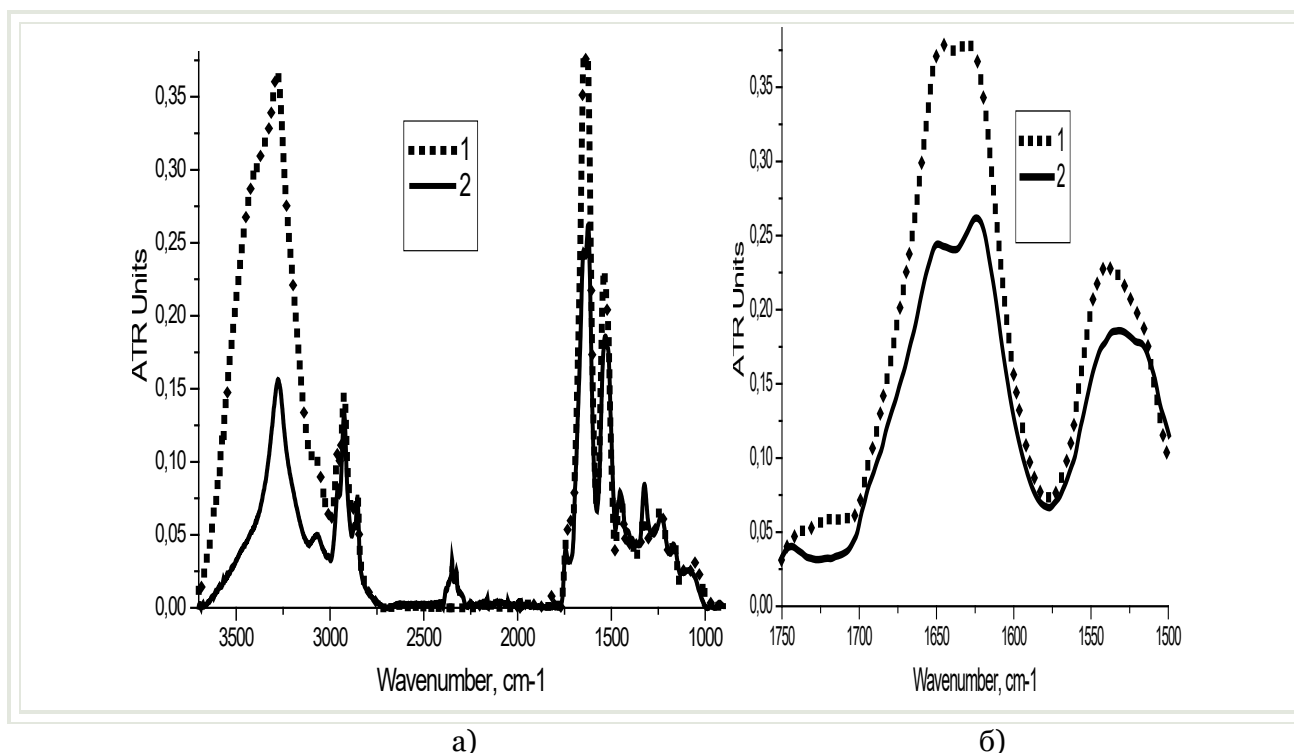


Рисунок 6 – а) ИК спектры миофибриллярных (1) и саркоплазматических (2) белков, осажденных ТХУК; б) фрагменты протениновой области ИК спектров

Figure 6. a) IR spectra of myofibrillar (1) and sarcoplasmic (2) proteins deposited by THUC; б) fragments of the protein region IR spectra

Значительное различие в интенсивности протеиновых полос в спектрах миофибриллярных белков, полученных осаждением этанолом (рисунок 5б) и ТХУК (рисунок 6б) как показывают данные, приведенные на рисунке 7, скорее всего, обусловлено наличием или отсутствием полипептидов в зависимости от осаждающего реагента.

Выделение пептидов проводили из надосадочного раствора 96% этанолом после отделения центрифугированием белков, осажденных ТХУК. Сопоставление кривых 2 на рисунках 5 и 7 позволяет отметить, что несмотря на менее заметное содержание, полоса пептидов актомиозинового комплекса по структуре, форме, направлению смещения максимума заметно отличается от полосы пептидов глобулярных белков саркоплазмы. Кроме того, следует отметить, что полоса симметричных колебаний NH-групп пептидной связи (в области  $3060\text{ см}^{-1}$ ) практически никогда не проявляется в спектрах выделенных пептидов, в отличие от осажденных как миофибриллярных, так и глобулярных белковых структур.

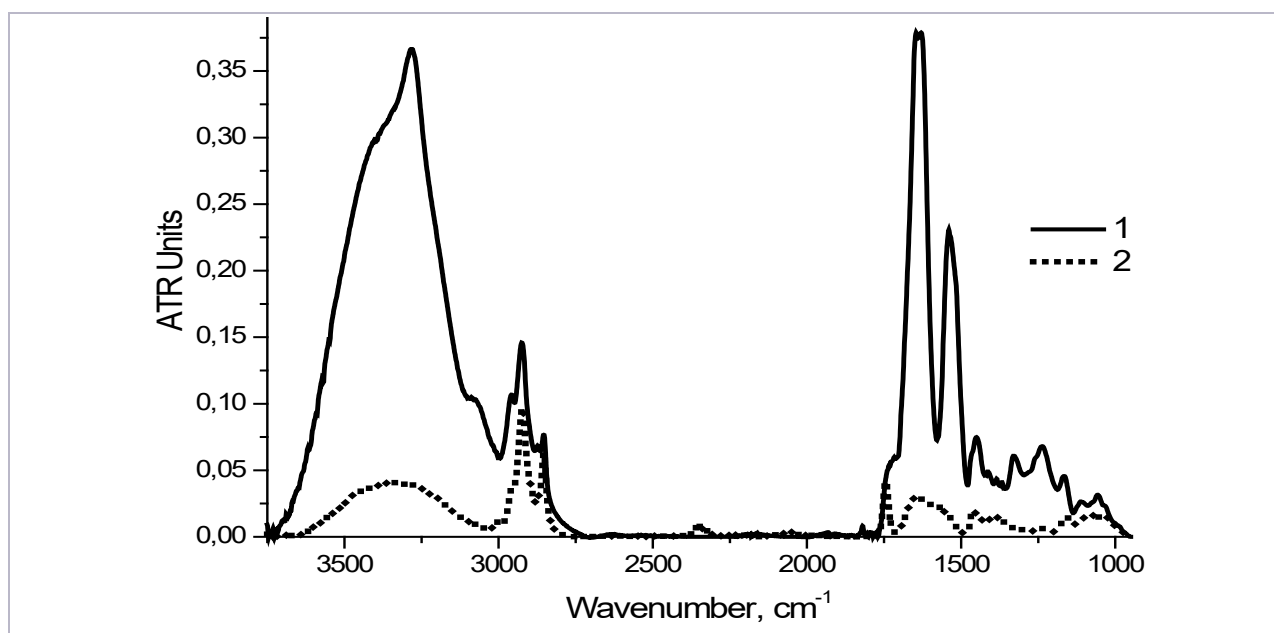


Рисунок 7 – ИК спектры миофибриллярных белков, осажденных ТХУК (1) и пептидов из надосадочного раствора, осажденных этанолом (2)

Figure 7. IR spectra of myofibrillar proteins precipitated by THUC (1) and peptides from the supernatant solution precipitated by ethanol (2)

Влияние сушки СВЧ излучением саркоплазматических белков, осажденных этанолом, и миофибриллярных белков мышечной ткани свинины, осажденных ТХУК, на их ИК спектр, иллюстрирует рисунок 8а. Полученные данные показали, что физическая природа механизма удаления связанной воды влияет на структуру спонтанно формирующихся при этом агрегатов, которые представляют собой пул взаимосвязанных разных по структуре белков.

По сравнению с воздушной сушкой при  $20^{\circ}\text{C}$  СВЧ сушка саркоплазматических белков всего лишь несколько изменяет форму полосы Амид-I, тогда как в спектре миофибриллярных белков, освобожденных от пептидов осаждением ТХУК, удаление воды СВЧ излучением вызывает ее структуризацию с разделением максимума на две составляющие (рисунок 8б). При этом резко падает интенсивность высокочастотной полосы ( $3500\text{--}3000\text{ см}^{-1}$ ) и меняется ее форма.

Полоса  $1623\text{ см}^{-1}$  принадлежит фибриллярному белку миозину, являющемуся основным белком мышечной ткани всех млекопитающих, птиц и рыб (40–60% от общего количества мышечных белков) с очень большим, примерно 1,5 млн Да (Дальтона), молекулярным весом. Полоса  $1650\text{ см}^{-1}$  обусловлена актином, вторым важным белком сократительного комплекса. Актин может существовать в двух формах – глобулярной мономерной (G-актин) и фибриллярной (F-актин), которые формируются при полимеризации G-актина в покоящейся мышце [25]. При мышечном сокращении он переходит в глобулярную. Молекулярная масса актина около 75 000 Да. В мышечной ткани его содержится 12–15% [3]. При



обработке мышечной ткани солевыми растворами в экстракт переходит актомиозин с неопределенным содержанием актина, которое зависит от длительности извлечения сократительных белков.

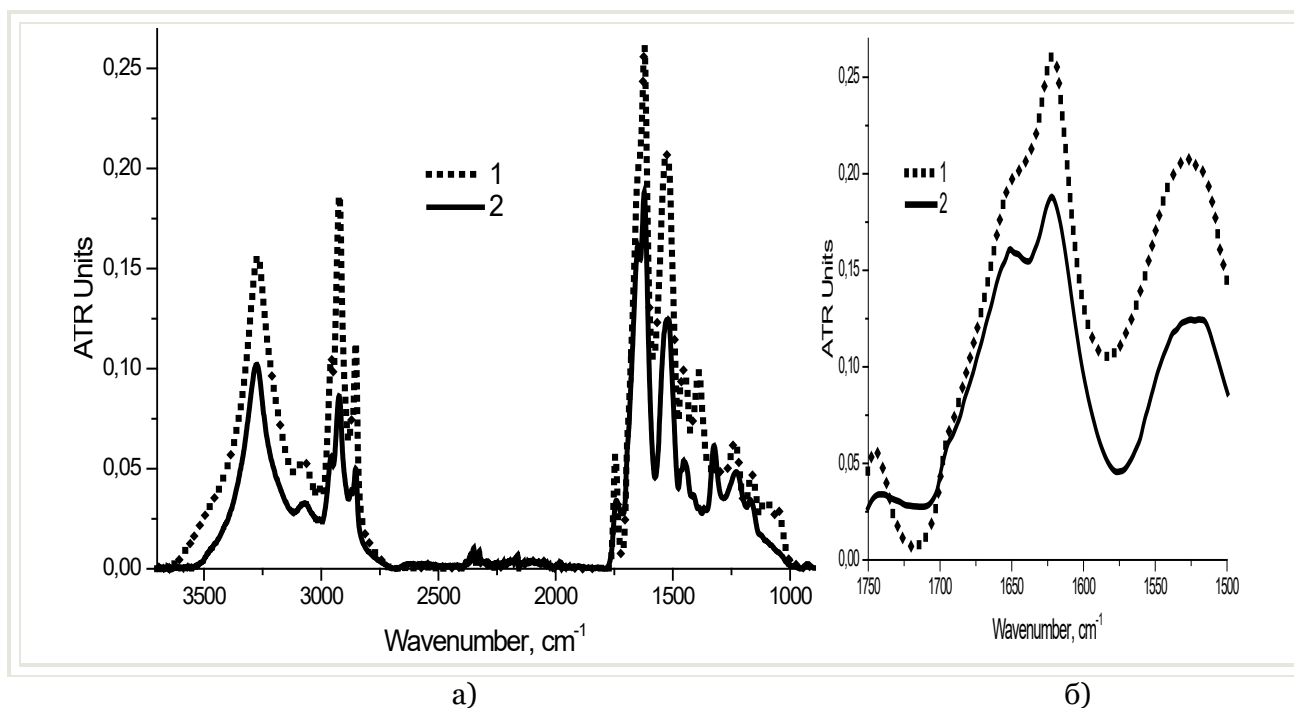


Рисунок 8 – а) ИК спектры саркоплазматических (1) и миофибриллярных (2) белков, прошедших СВЧ сушку; б) фрагменты протеиновой области

Figure 8. a) IR spectra of sarcoplasmic (1) and myofibrillar (2) proteins after microwave drying; б) fragments of the protein region

На примере белков стромы, полученных удалением из нее углеводной составляющей щелочной обработкой, и содержащих большое количество связанной воды, показано (рисунок 9) влияние способа сушки на эффективность ее удаления и связанное с различием в механизмах этого процесса изменение спектральных характеристик образцов. Данный образец белков стромы содержал примеси полисахаридов и липидов.

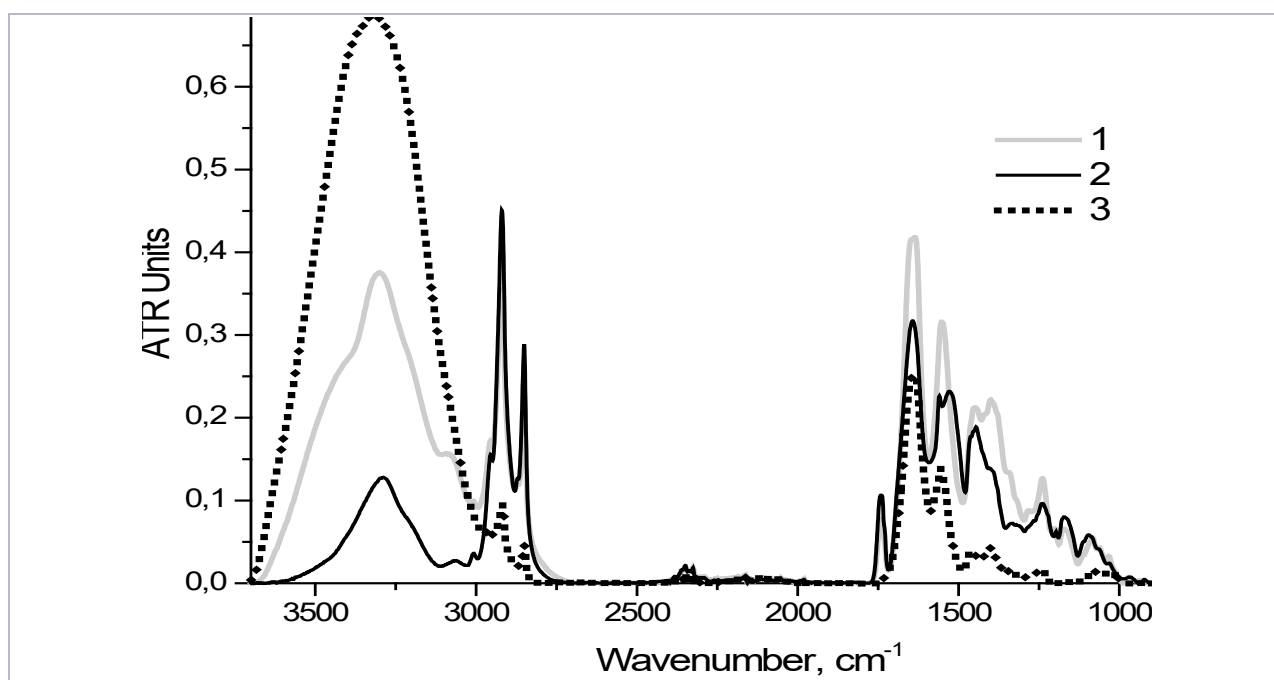


Рисунок 9 – ИК спектры белков стромы, высушенных: 1 – 20°C; 2 – СВЧ; 3 – лиофилизация  
Figure 9. IR spectra of stroma proteins dried: 1 – 20°C; 2 – microwave; 3 – lyophilization

Об эффективности методов сушки при удалении связанной воды наглядно говорят интенсивность и форма высокочастотных полос ( $3500\text{--}3020\text{ см}^{-1}$ ). Максимальное количество воды содержится в образце после сублимационной сушки. Свидетельством неполного удаления воды при воздушной сушке образца является достаточно интенсивное плечо на левой ветви этой полосы. Наиболее эффективно вода удаляется при СВЧ сушке. Кроме того, в спектрах двух последних образцов в области  $3020\text{ см}^{-1}$  достаточно хорошо проявлены полосы пептидной связи, отсутствующие в спектре лиофилизованного образца. Характер физических процессов, лежащих в основе методов, достаточно наглядно проявляется и в других областях спектра.

Фрагменты спектров, приведенные на рисунке 10, иллюстрируют как неоднозначно проявляется способ сушки и степень удаления связанной воды на оптических характеристиках протеиновых, липидных и полисахаридных компонентах. Присутствие связанной воды в лиофилизованном образце наиболее заметно отражается на спектре полисахаридов и липидов. Метод с использованием электромагнитных полей, значительно сокращающий время процесса, оказался наиболее жестким, действующим по-разному на протеины и углеводы в сравнении с воздушной сушкой при комнатной температуре.

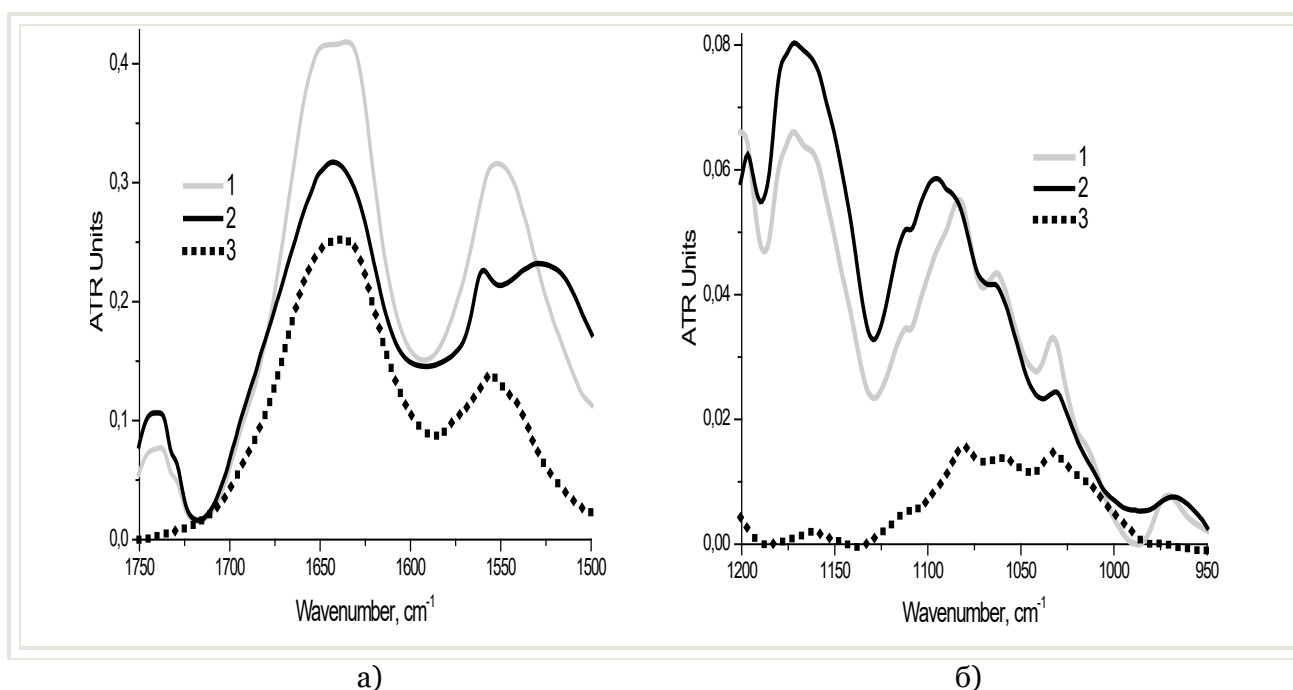


Рисунок 10 – Фрагменты ИК спектров белков стромы, высушенных: 1 –  $20^{\circ}\text{C}$ , 2 – СВЧ, 3 – лиофилизация; а) протеиновая; б) углеводная области

Figure 10. Fragments of IR spectra of stroma proteins dried: 1 –  $20^{\circ}\text{C}$ , 2 – microwave, 3 – lyophilization; а) protein; б) carbohydrate regions

Полученные данные показали, что вмешательство любого характера, механическое, химическое, температурное воздействие, сопровождающее технологический процесс, неизбежно приводит к разрушению нативных связей, реконструкции прежних и формированию новых. Все возможные изменения, хаотичные или последовательные приводят к спонтанному формированию протеиновых агрегатов с преобразованной структурой и свойствами.

## Выводы

Комплексное исследование белков разной категории мышечной ткани свинины – глобулярных, миофибриллярных и фибриллярных, различающихся растворимостью, структурой, аминокислотным составом, физико-химическими свойствами, и осаждающих реагентов разной природы, позволило дифференцировать и идентифицировать области проявления их основных полос поглощения. Отмечено, что при получении из мышечной ткани животного происхождения продукции целевого назначения необходимо учитывать не только ее происхождение, но и компонентный состав исходного

материала для рационального подбора и совместимости природы осадителя белков и метода сушки (воздушная, СВЧ, сублимационная).

## Литература

1. Нельсон Д., Коке М. Основы биохимии Ленинджера. В 3 т. Т. 1. Основы биохимии, строение и катализ / пер. с англ. М.: Лаборатория знаний, 2017. 694 с.
2. Северин Е.С., Алейникова Т.Л., Осипов Е.В., Силаева С.А. Биологическая химия. М.: Медицинское информационное агентство, 2008. 364 с.
3. Соколов А.А. Физико-химические и биохимические основы технологии мясопродуктов. М.: Пищевая промышленность, 1965. 489 с.
4. Толстогозуов В.В. Новые формы белковой пищи. М.: Агропромиздат, 1987. 303 с.
5. Рудинцева Т.А., Сафронова Г.А., Нечаева Н.Г. Лечебно-профилактические мясные продукты // Мясная промышленность. 1994. № 6. С. 26–27.
6. Северин Е.С. Биохимия. М.: Гэотар-Мед, 2004. 784 с.
7. Долгов В.В. (ред.) Клиническая лабораторная диагностика. В 2 т. Т. 1. М.: ЛабДиаг, 2017. 464 с.
8. Menéndez T., Santiago-Vispo N.F., Cruz-Leal Y, et al. Identification and characterization of phage-displayed peptide mimetics of *Neisseria meningitidis* serogroup B capsular polysaccharide. *Int. J. Med. Microbiol.* 2011, V. 301, Is. 1, pp. 16–25.
9. Кузник Б.И., Хавинсон В.Х., Морозов В.Г., Пинелис И.С. и др. Пептидные биорегуляторы: применение в травматологии, хирургии, стоматологии и онкологии. М.: Вузовская книга. 2004. 400 с.
10. Ярец Ю.И. Специфические белки: практическое пособие для врачей. В 2 ч. Часть I. Лабораторные тесты исследования специфических белков. Гомель, 2015. 64 с.
11. Peters T. *All about Albumin: Biochemistry, Genetics, and Medical Applications*. San Diego: Academic Press, 1996. 432 p.
12. Николаев А.Я. Биологическая химия. М.: Медицинское информационное агентство, 2004. 566 с.
13. Fratzl P. *Collagen. Structure and Mechanics*. Springer, 2008. 516 p.
14. ConFricke R., Hartmann F. *Connective Tissues: Biochemistry and Pathophysiology*. Springer Science & Business Media, 2012. 312 p.
15. Лелевич С.В. Клиническая биохимия. СПб.: Лань, 2020. 304 с.
16. Шлейкин А.Г., Скворцова Н.Н., Бландов А.Н. Биохимия. Лабораторный практикум. Ч.2 Белки. Ферменты. Витамины. СПб.: Изд-во ун-та ИТМО, 2015. 106 с.
17. Сова В.В., Кусайкин М.И. Методическое пособие к практическим занятиям по очистке белков. Владивосток: Изд-во Дальневост. ун-та, 2006. 42 с.
18. Арсенин С.Л. Клинический электрофорез белков – современные аспекты клинической диагностики. СПб.: Хелена РУС, 2017. 42 с.
19. Антипова Л.В., Глотова И.А., Рогов И.А. Методы исследования мяса и мясных продуктов. М.: Колос, 2001. 376 с.
20. Hu X.T., Liu C.M., Jin Z Y., Tian Y.Q. Preparative fractionation of dextrin by gradient alcohol precipitation. *Separation Science and Technology*. 2017, V. 52, pp. 2704–2714.
21. Рогов И.А. Электрофизические методы обработки пищевых продуктов. М.: Агропромиздат, 1988. 272 с.
22. Блынская Е.В., Тишков С.В., Алексеев К.В. Технологические подходы к совершенствованию процесса лиофилизации белковых и пептидных лекарственных препаратов // Российский биотерапевтический журнал. 2017. Т. 16. № 1. С. 6–11.
23. Stuart V.H. *Infrared Spectroscopy: Fundamentals and Applications*. N.-Y.: Wiley, 2004. 242 p.
24. Тарасевич Б.Н. Основы ИК спектроскопии с преобразованием Фурье. Подготовка проб в ИК спектроскопии. М.: МГУ. 2012. 22 с.
25. Кубасава Н.А., Цатурян А.К. Молекулярный механизм работы актин-миозинового мотора в мышце // Успехи биологической химии. 2011. Т. 51. С. 233–282.

## References

1. Nelson D., Cox M. *Lehninger Principles of Biochemistry. Part 1. Structure and Catalysis*. New York, W.H. Freeman and Company, 2008. 1306 p. (*In Russian*)
2. Severin E.S., Aleynikova T.L., Osipov E.V., Silaeva S.A. *Biological chemistry*. Moscow, Medical information Agency Publ., 2008. 364 p. (*In Russian*)
3. Sokolov A.A. *Physico-chemical and biochemical bases of meat products technology*. Moscow, Food Industry Publ., 1965. 489 p. (*In Russian*)
4. Tolstoguzov V.B. *New forms of protein food*. Moscow, Agropromizdat Publ., 1987. 303 p. (*In Russian*)

5. Rudintseva T.A., Safronova G.A., Nechaeva N.G. Therapeutic and preventive meat products. *Meat Industry*, 1994, no. 6, pp. 26–27. (In Russian)
6. Severin E.S. *Biochemistry*. Moscow, GEOTAR-Med Publ., 2004. 784 p. (In Russian)
7. Dolgov V.V. (Ed.) *Clinical laboratory diagnostics*. In 2 V. Moscow, Labdiag Publ., 2017. V. 1. 464 p. (In Russian)
8. Menéndez T., Santiago-Vispo N.F., Cruz-Leal Y, et al. Identification and characterization of phage-displayed peptide mimetics of *Neisseria meningitidis* serogroup B capsular polysaccharide. *Int. J. Med. Microbiol.* 2011, V. 301, Is. 1, pp. 16–25.
9. Kuznik B.I., Khavinson V.Kh., Morozov V.G., Pinelis I.S., etc. *Peptide bioregulators: Application in traumatology, surgery, dentistry and oncology*. Moscow, University book Publ., 2004. 400 p. (In Russian)
10. Yarets Yu.I. *Specific proteins*. Practical guide. In 2 parts. Part I. Laboratory tests for the study of specific proteins. Gomel, 2015. 64 p. (In Russian)
11. Peters T. *All about Albumin: Biochemistry, Genetics, and Medical Applications*. San Diego: Academic Press, 1996. 432 p.
12. Nikolaev A.Ya. *Biological chemistry*. Moscow, Medical information Agency Publ., 2004. 566 p. (In Russian)
13. Fratzl P. *Collagen. Structure and Mechanics*. Springer, 2008. 516 p.
14. ConFricke R., Hartmann F. *Connective Tissues: Biochemistry and Pathophysiology*. Springer Science & Business Media, 2012. 312 p.
15. Lelevich S.V. *Clinical biochemistry*. St. Petersburg, Lan' Publ., 2020. 304 p. (In Russian)
16. Shleikin A.G., Skvortsova N.N., Blandov A.N. *Biohimiya. Biochemistry*. Laboratory practice. Part 2. Proteins. Enzymes. Vitamins. St. Petersburg, ITMO University Publ., 2015. 106 p. (In Russian)
17. Sova V.V., Kusaykin M.I. *Methodological guide to practical classes on protein purification*. Vladivostok, Far Eastern University Publ., 2006. 42 p. (In Russian)
18. Arsenin S.L. Clinical electrophoresis of proteins-modern aspects of clinical diagnostics. St. Petersburg, Helena RUS Publ., 2017. 42 p. (In Russian)
19. Antipova L.V., Glotova I.A., Rogov I.A. *Methods of research of meat and meat products*. Moscow, Kolos Publ., 2001. 376 p. (In Russian)
20. Hu X.T., Liu C.M., Jin Z Y., Tian Y.Q. Preparative fractionation of dextrin by gradient alcohol precipitation. *Separation Science and Technology*. 2017, V. 52, pp. 2704–2714.
21. Rogov I.A. *Electrophysical methods of food processing*. Moscow, Agropromizdat Publ., 1988. 272 p. (In Russian)
22. Blynskaya E.V., Tishkov S.V., Alekseev K.V. Technological approaches to improving the lyophilization process of protein and peptide drugs. *Russian Biotherapeutic Journal*. 2017, V. 16, no. 1, pp. 6–11. (In Russian)
23. Stuart B.H. *Infrared Spectroscopy: Fundamentals and Applications*. N.-Y.: Wiley, 2004. 242 p.
24. Tarasevich B.N. *Fundamentals of IR spectroscopy with Fourier transform. Sample preparation in IR spectroscopy*. Moscow, Moscow State University Publ., 2012. 22 p. (In Russian)
25. Kubasova N.A., Tsaturyan A.K. Molecular mechanism of actin-myosin motor in muscle. *Advances in Biological Chemistry*. 2011, V. 51, pp. 233–282. (In Russian)

#### Информация об авторах

Алла Павловна Нечипоренко – д-р хим. наук, профессор Факультета прикладной оптики  
Светлана Михайловна Орехова – канд. техн. наук, зав. лабораторией биохимического класса  
Вера Евгеньевна Ситникова – канд. техн. наук, старший преподаватель Факультета прикладной оптики  
Диана Александровна Громова – магистрант Факультета прикладной оптики  
Анастасия Владимировна Бушуева – магистрант Факультета прикладной оптики  
Майя Валерьевна Успенская – д-р техн. наук, профессор Факультета прикладной оптики

#### Information about the authors

Alla P. Nechiporenko, D. Sc., Professor of Faculty of Applied Optics  
Svetlana M. Orekhova, Ph. D., Head of biochemical class laboratory  
Vera E. Sitnikova, Ph. D., Senior Lecturer of Faculty of Applied Optics  
Diana A. Gromova, Undergraduate of Faculty of Applied Optics  
Anastasia V. Bushueva, Undergraduate of Faculty of Applied Optics  
Maya V. Uspenskaya, D. Sc., Professor of Faculty of Applied Optics

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов / The authors declare no conflicts of interests

Статья поступила в редакцию 17.11.2020  
Одобрена после рецензирования 10.02.2021  
Принята к публикации 15.02.2021

The article was submitted 17.11.2020  
Approved after reviewing 10.02.2021  
Accepted for publication 15.02.2021