

D5482

Федеральное агентство по образованию
Государственное образовательное учреждение
высшего профессионального образования
САНКТ-ПЕТЕРБУРГСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
НИЗКОТЕМПЕРАТУРНЫХ И ПИЩЕВЫХ ТЕХНОЛОГИЙ



**Кафедра технологии мясных, рыбных продуктов
и консервирования холодом**

ОПРЕДЕЛЕНИЕ МАССОВОЙ ДОЛИ БЕЛКОВЫХ ФРАКЦИЙ МЫШЕЧНОЙ ТКАНИ

Методические указания
к лабораторной работе № 2 по курсу
«Методы исследования мяса и мясопродуктов»
для студентов специальности 260301

Второе издание, исправленное



Санкт-Петербург 2008

Базарнова Ю.Г., Бурова Т.Е., Поляков К.Ю. Определение массовой доли белковых фракций мышечной ткани: Метод. указания к лабораторной работе № 2 по курсу «Методы исследования мяса и мясопродуктов» для студентов спец. 260301 / Под ред. Н.А. Уваровой. 2-е изд., испр. – СПб.: СПбГУНиПТ, 2008. – 14 с.

Приведены теоретические положения и метод определения массовой доли растворимых и миофибриллярных белков мышечной ткани в зависимости от вида, срока хранения и технологической обработки.

Рецензент
С.Н. Горяйнов

Рекомендованы к изданию редакционно-издательским советом университета

1. ТЕОРЕТИЧЕСКИЕ ПОЛОЖЕНИЯ

Физические, физико-химические, микроструктурные и органолептические изменения, происходящие в тканях мяса после убоя животного, условно подразделяют на фазы послеубойного состояния: процессы окоченения, созревания и глубокого автолиза.

Мышцы парного мяса мягкие, гибкие, расслаблены, обладают высокой влагопоглощательной и влагоудерживающей способностью, которая обуславливает нежную консистенцию мяса после тепловой обработки, хотя оно не обладает выраженным вкусом и ароматом. Парное мясо имеет рН 6,8–7,0, в нем много аденозинтрифосфорной кислоты (АТФ); миозин и актин не связаны друг с другом, развариваемость коллагена внутримышечной соединительной ткани очень высокая (до 23 % его исходного содержания); прочно связанной влаги 84–90 % (от общего количества влаги в мясе); потери массы при варке до 41 %.

При послеубойном окоченении мышцы приобретают максимальную упругость, жесткость их увеличивается на 25 %, а сопротивление резанию – в два раза. Окоченение мяса связано с изменениями белков мышц. Состояние животного перед убоем, скорость охлаждения мяса и температура хранения, вид животного и его упитанность влияют на время наступления и продолжительности процесса окоченения.

В начальных стадиях автолиза мышечной ткани происходит уменьшение растворимости мышечных белков, а затем, после достижения определенного минимума, повышение их экстрагируемости. В этот период автолиза мышц млекопитающих и птиц для всех белков характерны связанные с изменением заряда конформационные сдвиги, стимулирующие агрегационные взаимодействия белков. Характер этих изменений для однотипных белков разных мышц неодинаков и соответствует интенсивности накопления кислот (продуктов автолиза небелковой природы). Поэтому и извлекаемость однотипных белков разных мышц при одинаковых условиях автолиза различна.

Мясо, сваренное в состоянии окоченения, жесткое, грубое, бульон мутный. Усваивается такое мясо хуже парного. Количество гликогена уменьшается в 5 раз, а количество молочной кислоты –

более чем в 2 раза, реакция среды смещается в кислую сторону. От протеинов актина и миозина отщепляются ионы кальция, калия, магния. При этом уменьшается растворимость протеинов, и вследствие уменьшения количества АТФ образуется нерастворимый актомиозин. Актин довольно прочно удерживается в структуре миофибрилл, поэтому и связанный с ним миозин не извлекается без воздействия веществ, деполимеризующих актомиозиновый комплекс. При наступлении процесса окоченения актомиозин обезвоживается, мышечные волокна резко уплотняются, объем их уменьшается и между ними появляются промежутки, развариваемость коллагена соединительной ткани уменьшается до минимума.

Уровень гидратации белков мышечной ткани в стадии окоченения снижается за счет уменьшения в молекулах белков числа гидрофильных центров при образовании актомиозина, а также приближения величины рН к изоэлектрической точке белков (5–5,5), при которой влагосвязывающая способность их уменьшается на 25 % по сравнению с парным мясом, т.е. до минимума. Во время развития окоченения массовая доля связанной влаги снижается до 72 % общего содержания ее в мясе. Понижение экстрагируемости миофибриллярных белков продолжается до определенного периода. Например, в мышцах крупного рогатого скота до 24–48 часов автолиза, а для мышц птиц этот срок значительно меньше. Затем происходит повышение их растворимости за счет как диссоциации актомиозинового комплекса, так и ослабления агрегационных взаимодействий вследствие перераспределения зарядов. Одной из причин повышения экстрагируемости является также ограниченная протеолитическая деструкция миофибриллярных белков.

Диссоциация актомиозина может быть установлена путем исследования физических и химических свойств водных вытяжек созревающего мяса.

2. МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ

Цель лабораторной работы: исследовать закономерности изменения фракционного состава белков мышечной ткани различных сроков хранения.

Объекты исследования: мясо (говядина, свинина, баранина или птица), мышечная ткань различных сроков хранения.

Работа выполняется фронтальным методом двумя группами студентов. Каждая группа исследует мышечную ткань различных сроков хранения. Первая группа студентов определяет количественные изменения водорастворимой фракции суммарных белков мяса. Вторая группа – изменения миофибриллярных белков. На основании сопоставления полученных результатов делается вывод об изменениях фракционного состава белков мышечной ткани в зависимости от сроков хранения и глубины автолитических изменений. Каждая группа студентов выполняет одновременно не менее трех параллельных определений с использованием перечисленных ниже реактивов, материалов и оборудования.

Реактивы и материалы

1. Мышцы животных различных видов (говядина, свинина, баранина или птица) и разных сроков хранения массой по 100 г.
2. Дистиллированная вода.
3. Солевой раствор Вебера.
4. Биуретовый реактив.
5. Ацетатный буферный раствор с рН = 4,8.
6. Уксусная кислота, 1 %-й раствор.
7. Кварцевый песок.

Оборудование

1. Доски разделочные, ножи.
2. Мясорубка.
3. Гомогенизатор.
4. Весы лабораторные.

5. рН-метр.
6. Термостат.
7. Центрифуга лабораторная.
8. Спектрофотометр или фотоэлектроколориметр.
9. Стаканы стеклянные на 200 мл.
10. Воронки стеклянные, стеклянные палочки, пипетки мерные на 1, 2 и 5 мл, цилиндры мерные на 25 мл.
11. Пробирки стеклянные на 20 мл с лабораторными штативами.
12. Ступки фарфоровые с пестиками.
13. Эксикаторы.

3. ХОД РАБОТЫ

3.1. Приготовление исследуемого экстракта водорастворимых белковых фракций и осадка миофибриллярных белков

Задание выполняется всеми группами студентов следующим образом:

а) Мышцы животных различных сроков хранения массой 100 г каждая группа студентов освобождает от жира и прирезей соединительной ткани, измельчают сначала ножом, затем на мясорубке.

б) Навески измельченного сырья массой 3–4 г помещают в стаканы и добавляют дистиллированную воду в соотношении 1:6 (по массе). Тщательно перемешивают и ведут экстракцию при 0 °С в течение 30 минут.

Навеску с экстрактом переносят в центрифужные пробирки и центрифугируют при скорости 5000 оборотов в мин в течение 15 минут. Надосадочную жидкость осторожно декантируют в стеклянные пробирки с притертыми пробками и используют впоследствии для определения водорастворимой фракции мышечных белков. Экстракт сохраняется при температуре 4 °С не более 7 дней.

в) Осадки после извлечения водорастворимой фракции белков вторая группа студентов количественно переносит в фарфоровые ступки с песком и добавляет к ним солевой раствор Вебера в соотношении 1:6 (по массе) к первоначальной навеске мышечной ткани (см. п. 3.1б). Экстракцию ведут при 0 °С в течение 20-и минут. По

истечении этого времени экстракты и навески переносят в центрифужные пробирки и центрифугируют в течение 10-и минут при скорости 5000 оборотов в мин. Надосадочную жидкость осторожно декантируют и используют для количественного определения актомиозинового комплекса миофибриллярных белков. Экстракты сохраняются при температуре 4 °С в стеклянных пробирках с пробками не более 7-и дней.

3.2. Определение массовой доли водорастворимой фракции белков

Определение массовой доли водорастворимой фракции белков выполняется первой группой студентов:

В три пробирки помещают по 1 мл исследуемого экстракта (см. п. 3.1, б) и прибавляют по 4 мл биуретового реактива. Смесь оставляют при температуре 20–25 °С в течение 30 мин. По истечении этого времени измеряют оптическую плотность растворов на спектрофотометре ($\lambda = 540...560$ нм, $t = 10$ мм). Для практического определения и последующего расчета используют градуировочный график (см. прил.).

Расчет производят по формуле

$$X = \frac{c \cdot V \cdot P}{m} 100,$$

где X – массовая доля водорастворимой белковой фракции в пересчете на альбумин, %; c – концентрация водорастворимого белка, полученная по градуировочному графику; V – объем исследуемого экстракта; P – степень разведения; m – масса навески мышечной ткани.

Результаты исследований заносят в табл. 1.

Таблица 1

№ образца	Вид мышечной ткани	V , мл	M , г	№ пробы	D отн. ед.	c , мг/мл	X , %	\bar{X} , %
				1				
				2				
				3				

Производят расчет погрешности определения массовой доли водорастворимой фракции суммарных белков для разных видов мышечной ткани.

Таблица 2

3.3. Определение миофибриллярных белков

Определение миофибриллярных белков выполняется второй группой студентов.

Для снижения концентрации солей в экстракте белков солерастворимой фракции (см. п. 3.1, в) по 2 мл экстрактов помещают в три пробирки и прибавляют дистиллированную воду, охлажденную до 0 °С, в соотношении 1:9. При проведении работы исследуют две зоны осаждения актомиозинового комплекса – при pH = 5,2 и pH = 7,0. В первом случае к половине объема разведенного раствора добавляют по каплям ацетатный буфер с pH = 4,8, контролируя и доводя pH раствора по pH-метру до 5,2. Во втором случае половину разведенного раствора нейтрализуют по каплям 1 %-м раствором уксусной кислоты, доводя pH до 7,0. Осажденный актомиозин после некоторого уплотнения при отстаивании на холоде (30 минут в холодильной камере) фильтруют на предварительно высушенных до постоянной массы в термостате при температуре 105 °С и взвешенных на аналитических весах с точностью до 0,0002 г фильтрах. Массу осадков определяют после их высушивания на фильтрах до постоянной массы при температуре 105 °С.

Массовые доли фракций актомиозина X (%) рассчитывают по формуле

$$X = \frac{(a - a_{\phi}) P}{m_{\text{нав}}} 100,$$

где a – суммарная масса фильтра и сухого остатка; a_φ – масса высушенного фильтра; P – разбавление раствором Вебера; m_{нав} – масса навески образца мышечной ткани, (см. п. 3.1, б).

Результаты исследований заносят в табл. 2.

Вид мышечной ткани	m _{нав} , г	Вид экстракта	V, мл	P	№ пробы	a _φ , г	a, г	a-a _φ , г	X, %	\bar{X} , %
Говядина охлажденная, τ _{хр} =					1					
					2					
					3					
Говядина замороженная, τ _{хр} =					1					
					2					
					3					

Производят расчет погрешности определения миофибриллярных белков для мяса различных видов и сроков хранения.

3.4. Математическая обработка результатов измерений

1. Рассчитать среднее арифметическое значение массовой доли белковых фракций – \bar{X} в исследуемых образцах мышечной ткани:

$$\bar{X} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n X_i,$$

где n – число измерений.

2. Найти среднее квадратическое отклонение результата измерения:

$$S_{\bar{X}} = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (X_i - \bar{X})^2}{n(n-1)}}.$$

3. Определить доверительный интервал при вероятности $\alpha = 0,95$:

$$\Delta\bar{X} = t_{\alpha,n} \cdot S_{\bar{X}},$$

где $t_{\alpha,n}$ – коэффициент Стьюдента

n	2	3	4	5	6	7	8	9	10
$t_{\alpha,n}$	12,7	4,3	3,2	2,8	2,6	2,4	2,4	2,3	2,3

4. Округлить результат определения массовой доли белковых фракций \bar{X} в соответствии с полученной величиной $\Delta\bar{X}$ и занести их значения в табл. 1, 2.

5. Найти относительную погрешность измерения массовой доли белковых фракций $\varepsilon_{\bar{X}}$ (%):

$$\varepsilon_{\bar{X}} = \frac{\Delta\bar{X}}{\bar{X}} 100.$$

4. ОФОРМЛЕНИЕ РАБОТЫ

Отчет о лабораторной работе должен содержать следующее:

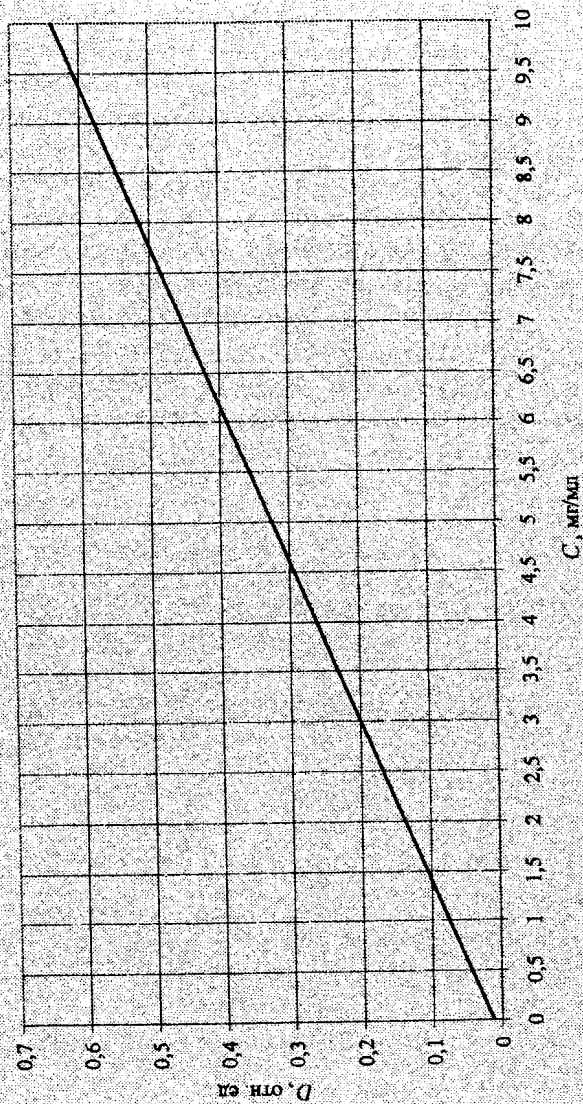
1. Цель работы и краткие теоретические сведения.
2. Описание эксперимента (схема).
3. Таблица с полученными экспериментальными данными.
4. Анализ результатов и выводы.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Антипова Л.В., Геотова И.А., Рогов И.А. Методы исследования мяса и мясных продуктов. – М.: Колос, 2001. – 376 с.
2. Бровко О.Г., Гордиенко А.С., Дмитриева А.Б. и др. Товароведение пищевых продуктов. – М.: Экономика, 1989. – 424 с.
3. Журавская Н.К., Гутник Б.Е., Журавская Н.А. Технохимический контроль производства мяса и мясопродуктов. – М.: Колос, 1999. – 174 с.
4. Павловский Т.Е., Пальмин В.В. Биохимия мяса. – М.: Пищ. пром-сть. 1975. – 343 с.
5. Парамонова Т.И. Экспресс-методы оценки качества продовольственных товаров. – М.: Экономика, 1988. – 111 с.
6. Рогов И.А., Забашта А.Г., Казюлин Г.П. Общая технология мяса и мясопродуктов. – М.: Колос, 2000. – 367 с.
7. Соловьёв В.И. Созревание мяса (теория и практика процесса). – М.: Пищ. пром-сть. 1975. – 343 с.

1. ТЕОРЕТИЧЕСКИЕ ПОЛОЖЕНИЯ	3
2. МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ	5
3. ХОД РАБОТЫ	6
3.1. Приготовление исследуемого экстракта водорастворимых белковых фракций и осадка миофибриллярных белков.....	6
3.2. Определение массовой доли водорастворимой фракции белков	7
3.3. Определение миофибриллярных белков	8
3.4. Математическая обработка результатов измерений.....	9
4. ОФОРМЛЕНИЕ РАБОТЫ.....	10
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	11
ПРИЛОЖЕНИЕ.....	12

Калибровочный график для определения содержания водорастворимой фракции суммарных белков (по альбумину)



Базарнова Юлия Генриховна
Бурова Татьяна Евгеньевна
Поляков Константин Юрьевич

ОПРЕДЕЛЕНИЕ МАССОВОЙ ДОЛИ БЕЛКОВЫХ ФРАКЦИЙ МЫШЕЧНОЙ ТКАНИ

Методические указания
к лабораторной работе № 2 по курсу
«Методы исследования мяса и мясопродуктов»
для студентов специальности 260301

Второе издание, исправленное

Редакторы
Е.О. Трусова, Л.Г. Лебедева

Корректор
Н.И. Михайлова

Подписано в печать 03.03.08. Формат 60×84 1/16
Усл. печ. л. 0,93 Печ. л. 1,0 Уч.-изд. л. 0,88
Тираж 50 экз. Заказ № 82 С 44

СПбГУНиПТ. 191002, Санкт-Петербург, ул. Ломоносова, 9
ИИК СПбГУНиПТ. 191002, Санкт-Петербург, ул. Ломоносова, 9