

ИЗМЕНЕНИЯ БЕЛКОВ МЯСА РЫБЫ ПРИ РАДУРИЗАЦИИ И ЗАМОРАЖИВАНИИ

А.В. Кардашев, Н.Д. Бобровская,
Д.Р. Копыленко

Возможность использования ионизирующей радиации для консервирования пищевых продуктов, в частности рыбных, предполагает сохранение их первоначальных свойств, которые в первую очередь зависят от состояния белков.

Гамма-радиационная обработка морской и речной рыбы дозами 0,2 и 0,4 Мрад не вызывает значительных изменений растворимости мышечных белков и не оказывает существенного влияния на электрофоретическую подвижность и соотношение фракций саркоплазматических белков [1]. В предлагаемой статье изложены результаты сравнительных исследований белков рыбы мороженой и радиурезанной в процессе хранения.

Живую рыбу (карп), разделанную на филе, упаковывали на вакуум-укупорочной машине "Негро" под вакуумом (700 мм рт. ст.) в пакеты из полиэтилен-лаванса. Одну партию рыбы облучали на установке ВНИИРТ Со-60 дозами 0,2, 0,4 и 2,5 Мрад при мощности дозы 1 Мрад/ч и хранили при температуре $2 \pm 2^{\circ}\text{C}$. Другую партию рыбы замораживали при температуре минус 28°C и хранили при минус 18°C . Образцы анализировали на 1, 15, 30 и 60-е сут.

Саркоплазматические и миофибриллярные белки, экстрагированные фосфатным буфером, разделяли методом диск-электрофореза на полиакриламидном геле в глицинфосфатном буфере, pH 8,6 при напряжении 300 В и силе тока 48 А [12].

Гельхроматографию проводили на сефадексе $G = 100$; для разделения саркоплазматических белков использовали Na-K-фосфатный буфер с pH 7,2, ионной силой 0,05, для миофибриллярных Na-K-фосфатный буфер + КС с pH 7,5 ионной силой 0,5; параметры колонки 1,9x45 см, скорость вытекания 3 мл за 6 мин; в каждой порции элюата определяли оптическую плотность при 279 Нм на спектрофотометре Сф-4а [3].

Саркоплазматические белки мышечной ткани как свежего (контроль), мороженого, так и облученного карпа делятся на 10 фракций, движущихся от катода к аноду (рис. 1). Преальбуминовая зона отсутствует, в зоне альбуминов расположена слабоокрашенная фракция. Глобулины представлены девятью четкими фракциями, из которых вторая окрашена слабо, шестая массивная - ярко.

Миофибриллярные белки делятся на восемь фракций, движущихся от катода к аноду: первые три быстроидущие, а также шестая и восьмая - отчетливые; четвертая, пятая и седьмая - интенсивно окрашенные.

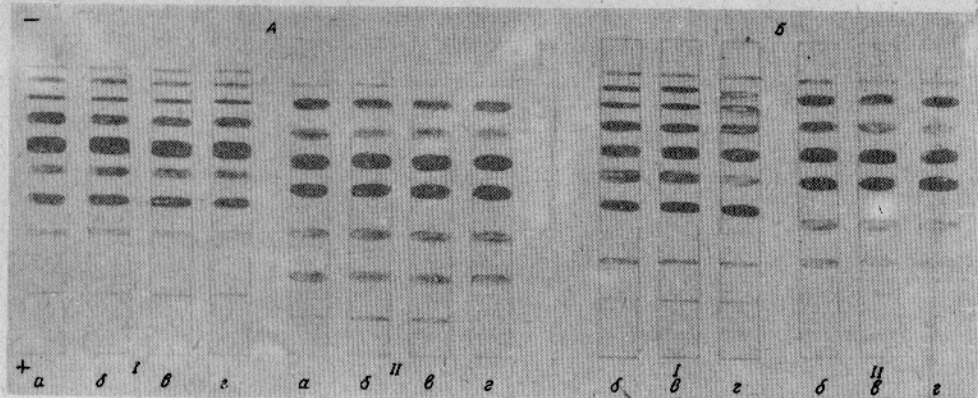


Рис.1. Диск-электрофореграммы саркоплазматических (I) и миофибрилярных (II) белков карпа;

А - в процессе хранения; Б - на 30-е сутки хранения; а - свежего; б - мороженого; в - облученного дозой 0,4 Мрад; г - дозой 2,5 Мрад.

Облучение карпа оптимальными дозами 0,2 и 0,4 Мрад, а также замораживание не изменяют качественного состава саркоплазматических белков в течение 15 сут. Первая быстроидущая фракция исчезает только в миофибрилярных белках карпа, облученного дозой 2,5 Мрад.

На 30-е сутки хранения в саркоплазматических белках мороженой и облученной дозами 0,2 и 0,4 Мрад рыбы в зоне глобулинов выпадает вторая по скорости идущая фракция, в образцах, облученных дозой 2,5 Мрад, не разделяются седьмая, восьмая, девятая фракции (рис. 1,б).

Подвижности фракций миофибрилярных белков во всех образцах несколько уменьшаются.

Как видно из приведенных данных, воздействие всех доз гамма-облучения, кроме 2,5 Мрад, не изменяет качественного состава и подвижности фракций мышечных белков карпа. В процессе хранения фракционный состав белков как у облученных, так и у мороженых, образцов рыбы изменяется незначительно.

Мы не располагаем литературными данными о гелеэлектрофорезе белков мяса облученной рыбы, которые можно было бы сравнить с нашими. Имеются сведения о том, что дозы 0,4 и даже 1,5 Мрад не изменяют качественного состава саркоплазматических белков мяса [4,8]. Однако облучение говяжьего мяса дозой 3 Мрад изменяет электрофоретическую характеристику растворимых белков как в качественном, так и в количественном отношении.

Сравнение наших и литературных данных свидетельствует о том, что растворимые белки речных рыб, подвергнутых действию облучения или замораживания при последующем хранении, более стабильны, чем белки говяжьего мяса, которые уже в течение 10-20 дней хранения теряют до 30% числа фракций. Меньше в процессе хранения рыбы изменяется экстрагируемость ее мышечных белков.

Методом диск-электрофореза удалось получить четкую картину качественных изменений белков. Применение метода гелехроматографии позволяет получить более полные сведения о количественном изменении отдельных групп мышечных белков.

Условием разделения смеси веществ при пропускании их через колонку с сефадексом является различная скорость движения этих веществ по колонке в зависимости от их молекулярной массы. Согласно литературным данным, при гелехроматографии белки саркоплазмы можно подразделить на три основные фракции: глобулины, миогены и миоальбумины [10]. Миофибрилярные белки при принятых условиях разделяются на актомиозин плюс миозин, актин и тропомиозин [11].

Результаты исследования белков мяса карпа методом гелехроматографии представлены на рис. 2. В наших опытах саркоплаз-

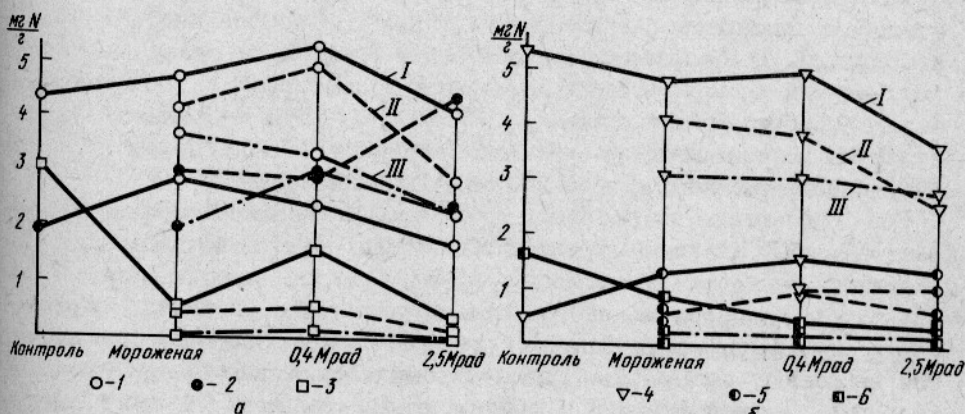


Рис. 2. Фракционное изменение саркоплазматических (а) и миофибрилярных (б) белков карпа свежего, мороженого и облученного в процессе хранения (в сут): 1 - 0; II - 15; III - 30; 1 - глобулин; 2 - миоген; 3 - миоальбумин; 4 - актомиозин; 5 - актин; 6 - тропомиозин.

матические белки, выделенные из образцов контрольных, облученных дозами 0,4 и 2,5 Мрад, и мороженых, делятся на три фракции. Независимо от способа консервирования миоальбуминовая фракция во всех образцах уменьшается по сравнению с контролем, особенно в образцах при радиопертизации дозой 2,5 Мрад и замораживании. Помимо этого, при дозе 2,5 Мрад образуются две низкомолекулярные фракции, видимо, в результате непосредственного воздействия ионизирующих излучений на связи в белковых молекулах, что вызывает частичную деструкцию белков.

Появление в белках новых фракций различной молекулярной массы вследствие применения высоких доз (от 1 Мрад и выше) согласуется с литературными данными, которые были получены в

опытах с чистыми белками [10] и тканями, обработанными гамма-лучами с целью консервирования [2, 7, 13].

Через 15 дней хранения количество миоальбуминов во всех образцах продолжает снижаться. В саркоплазматических белках, облученных дозой 2,5 Мрад, и мороженых уменьшается фракция глобулинов. Фракционирование саркоплазматических белков показало, что облучение дозой 2,5 Мрад вызывает небольшое увеличение миогена, что связано, видимо, с агрегацией глобулинов вследствие денатурации, в результате чего эта часть белков элюирует вместе с белковой фракцией миогена. При дальнейшем хранении во всех образцах образуются высокомолекулярные фракции и продолжает снижаться количество миоальбуминов. Возможно, что высокомолекулярная фракция образуется вследствие агрегации белковых молекул в белках при хранении [5].

Таким образом, в саркоплазматических белках к указанным способам консервирования чувствительна только фракция миоальбуминов. В миофибриллярных белках (рис. 2, б) сразу же после облучения и замораживания снижается количество тропомиозина, что подтверждается в опытах с мясом [6, 15] и несколько увеличивается по сравнению с контролем фракция актина, вероятно, за счет преобразования актомиозинового комплекса.

Все эти изменения особенно отчетливы в белковых фракциях образцов рыбы, облученных дозой 2,5 Мрад. В этих же образцах обнаружена четвертая низкомолекулярная фракция, являющаяся результатом непосредственного влияния облучения на белки. Процессы в миофибриллярных белках в течение тридцатидневного хранения вызывают дальнейшее незначительное снижение растворимости второй и третьей фракций и образование небольшой высокомолекулярной фракции независимо от вида консервирования и дозы облучения. Наши данные в основном согласуются с литературными, которые были получены в опытах с мясом животных [4].

Таким образом, методы консервирования не вызывают особых изменений белковых фракций, за исключением миоальбуминов и тропомиозина, которые чувствительны к методу консервирования. Основные изменения в белках происходят при хранении.

Выводы

1. Гамма-радиационное консервирование карпа оптимальными дозами 0,2 и 0,4 Мрад, замораживание, а также последующее хранение в течение 15 сут не влияют на качество мышечных белков и подвижность их фракций.

Через 30 сут хранения как в мясе радиурлизованной, так и замороженной рыбы выпадает одна фракция глобулинов и уменьшается подвижность фракций миофибриллярных белков.

2. Методом гельхроматографии в саркоплазматических белках карпа идентифицированы три фракции: глобулин, миоген и миоальбумины; в миофибриллярных белках: актомиозин + миозин, актин и тропомиозин. Замораживание, радиурзация и последующее хранение приводят к снижению миоальбуминов и тропомиозина.

3. Методы диск-электрофореза и гельхроматографии показали, что в процессе хранения до 30 сут изменения мышечных белков радиризованной и замороженной рыбы аналогичны. Следовательно, радиризация рыбы дозами до 0,4 Мрад также приемлема, как и замораживание. Радаптертизация свежей рыбы без использования защитных факторов невозможна.

Список использованной литературы

1. Бобровская Н. Д., Копыленко Л. Р. Саркоплазматические и миофибриллярные белки свежей рыбы после гамма-облучения. - "Труды ВНИРО", 1974, т. ХСУ, с. 14-20.
2. Дацкив М. З. Действие ионизирующей радиации на биосинтез растворимых белков мышечной ткани. - В кн.: Биологическое действие радиации. Львов, 1965, вып. 3, с. 25-28.
3. Гинодман Л. М. Хроматография белков на ионообменниках и фракционирование смесей, содержащих белки, на колонках с сефадексом. - В кн.: Современные методы в биохимии. М., 1964, с. 37-73.
4. Гельфанд С. Ю., Анисимов Б. Н. Биохимические основы радиационной технологии радиризации охлажденного мяса. Сборник докладов симпозиума обработки пищевых и сельскохозяйственных продуктов. София, 1974, с. 7-90.
5. Жоли М. Физическая химия денатурации белков. М., "Мир", 1968. 364 с.
6. Сухомлинов Б. Ф., Мысак В. Я. Влияние проникающей радиации на структуру тропомиозина. - В кн.: Биологическое действие радиации. Львов, 1965, вып. 3, с. 21-25.
7. Сухомлинов Б. Ф., Дацкив М. З., Хмель М. В. Радиационное повреждение белковой компоненты миоглобина облученных животных. - "Радиобиология", 1971, т. XI, № 1, с. 37-42.
8. Сухомлинов Б. Р., Олейник Я. В. Влияние высоких доз γ -облучения ^{60}Co на аминокислотный состав и электрофоретическую характеристику растворимых белков мяса в процессе его хранения. - В кн.: Биологическое действие радиации. Львов, 1965, с. 44-48.
9. Фракционный состав белков и сократительная функция мышц различных типов. - "Биохимия", 1959, т. 24, 3, с. 451-458. Авт.: И. И. Иванов, З. Н. Жахова, И. П. Зиновьева, Н. И. Минович, В. П. Моисеева Э. А. Паршина.
10. Хенох М. А., Лапинская Е. М. Действие γ -излучения радиоактивности ^{60}Co на белки и аминокислоты. - "ДАН СССР", 1955, 102, № 5, с. 993-1002.
11. Andrews P. The gel-filtration behaviour of proteins related to their ranke. Bioch. J., 1965, v. 96, N 3, p. 595.
12. Davis B.J. Disc electrophoresis. II. Method and

application to human serum proteins. Ann. Acad. Sci., 1964, v. 121, N 2, N.Y. 1961, p. 404.

13. Spinelli J. et al. Freezing Irradiation of Fish. London, Fishing News (Books), 1969, p. 425.

CHANGES IN FISH FLESH PROTEINS UNDER RADURIZATION AND FREEZING

A.V.Kardashev, N.D.Bobrovskaya and L.R.Kopylenko

S U M M A R Y

Sarcoplasmic and myofibrillar proteins have been investigated in radurized frozen carp during storage. Sarcoplasmic and myofibrillar proteins were separated by disc-electrophoresis into 10 and 8 fractions, respectively.

Radurization, like freezing, has been shown not to change the qualitative composition of muscle proteins. After 30 days of storage, the globulin fraction of the sarcoplasmic proteins was found to precipitate. The qualitative composition of the myofibrillar proteins did not alter, though their lability was observed to somewhat decline.

Three fractions: globulin X, myogens and myoalbumins were identified by gel-chromatography in the sarcoplasmic proteins, and actomyosin plus myosin, actin and tropomyosin, in the myofibrillar proteins. Freezing and radurization, as well as subsequent storage, bring about a reduction in myoalbumins and tropomyosin.

After 30 days of storage, changes in muscle proteins were found to be insignificant and identical both in radurized and in frozen fish.