Я.М. Узаков, Л.А. Каимбаева

ИЗМЕНЕНИЕ АКТИВНОСТИ ТКАНЕВЫХ ПРОТЕИНАЗ МЯСА МАРАЛОВ ПО СТАДИЯМ ПРОЦЕССА АВТОЛИЗА

В статье поставлена цель: провести исследования активности тканевых ферментов – катепсинов и кальпаинов – мышц мяса маралов в процессе автолиза. Для ускорения процесса автолиза мяса маралов авторы в данной работе использовали механическую обработку в массирующих устройствах.

Мясо маралов, протеолитические ферменты, катепсины, кальпаины, массирование, автолиз.

Известно, что в послеубойный период свойства всех тканей животного организма значительно изменяются, особенно мышечной ткани, при этом наступает автолиз. Состояние автолиза тканей легко определить визуально по внешним признакам.

Скорость развития окоченения и его глубина зависят от видовых особенностей животного и внешних физико-химических факторов. Так, например, для крупного рогатого скота при температуре, близкой к нулю, окоченение наступает через 18–24 ч. Окоченение развивается вдвое быстрее при 15–18 °C, а при 37 °С – в четыре раза. При быстром охлаждении туш молодых животных после убоя окоченение протекает быстрее, чем у старых, упитанность мышц также влияет на глубину и скорость окоченения. При высокой упитанности скорость окоченения протекает медленнее. Процесс посмертного окоченения также зависит от состояния здоровья животного [1].

Окоченение мускулатуры связано с изменениями состояния мышечных волокон, которые после убоя остаются напряженными.

Механизм сокращения мышечных волокон в период окоченения сходен с механизмом их сокращения при жизни, однако имеются и существенные различия. Вместо организованного и регулируемого сокращения волокна под влиянием нервного импульса беспорядочно сокращаются по всей поверхности мышц.

Как показали исследования [2], гликолитические процессы, приводящие к накоплению молочной кислоты и снижению рН мяса, в основном завершаются через 24 ч хранения при температуре 4 °С. Изменение величины рН прямо зависит от количества образовавшейся молочной кислоты и является надежным показателем процесса гликогенолиза.

Неравномерность перехода в сокращенное состояние обнаруживается даже по длине одного и того же волокна: одна часть его может быть расслаблена, в то время как другая — сокращена. В структуре волокон развивается большое напряжение, которое выражается в появлении признаков их внутреннего строения. С развитием автолиза число сокращенных волокон в мышце нарастает и достигает максимума в период окоченения.

Спустя 24—48 ч наступает период разрешения мышечного окоченения, при котором все более заметными становятся признаки разрушения клеточных структур: ядра сморщиваются, появляются разрывы мышечных волокон.

Современные представления о механизме автолитических процессов базируются на ферментативной природе посмертных изменений мышечной ткани, установленных И.А. Смородинцевым. Наиболее важное значение отводится двум основным ферментным системам. Одна из них связана с функцией движения и регулирует сокращение — расслабление, другая катализирует непрерывный распад главных структурных элементов мышечного волокна по типу гидролиза. Роль каждой из этих двух систем в развитии этапов автолиза различна, но их функции тесно связаны между собой.

Созревание мяса связывают с ослаблением поперечных связей между актином и миозином с последующей диссоциацией комплекса. Изменения свойств белков, предшествующие релаксации мышцы, тесно связаны с деятельностью протеолитических ферментов — катепсинов, которые во втором периоде автолиза освобождаются из лизосом и под воздействием кислой реакции среды клетки активируются. Катепсины являются типичными протеиназами и вызывают деструкцию высокомолекулярных белков. Изучение свойств тканевых протеиназ позволит целенаправленно изменять функциональнотехнологические показатели мяса маралов.

В связи с вышеизложенным проведены исследования активности тканевых ферментов – катепсинов, кальпаинов и аденозинтрифосфатазы (АТФазы) – мышц мяса маралов. Для определения протеолитической активности (ПА) ферментов катепсинов и кальпаинов использовали метод Ансона в модификации Е. Каверзневой. ПА катепсинов и кальпаинов выражали в мкМ тирозина за 1 час на 1 г ткани [3]. Активность АТФаз определяли биохимическим способом и выражали в мкМ Фн (неорганического фосфора) [4].

Результаты проведенных исследований показали, что в процессе автолиза происходит высвобождение катепсинов в мышечной ткани маралов и проявление активности (рис. 1). Рост свободной активности катепсина Д определялся скоростью и глубиной гликолитических изменений.

Данные, представленные на рис. 1, свидетельствуют о низкой активности катепсина Д через 2–3 ч с момента убоя скота. Низкая активность катепсина Д после убоя объясняется наличием в мясе интактной мембраны, удерживающей катепсины в латентном состоянии. При дальнейшем созревании проницаемость мембран лизосом повышается и происходит активное вы-

свобождение катепсина Д и увеличение концентрации ионов водорода в саркоплазме мышечного волокна.

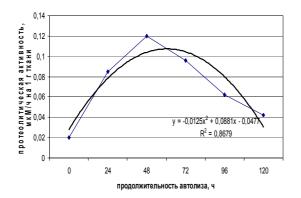


Рис. 1. Зависимость протеолитической активности катепсина Д мышечной ткани мяса маралов от продолжительности автолиза

Максимальный рост протеолитической активности для мяса маралов наблюдался через 48 часов после убоя -0.12 мкМ/ч на 1 г белка. В последующие часы созревания происходила инактивация катепсина Д.

Максимальная протеолитическая активность кальпаинов наблюдалась в парном мясе маралов — 0,075 мкМ/ч на 1 г белка (рис. 2). Протеолитическая активность кальпаинов резко снизилась на 2-е и 3-и сутки созревания, на 4-е и 5-е сутки стабилизировалась. Этот процесс можно объяснить автопротеолизом и наличием ингибитора фермента кальпаина — кальпастатина.

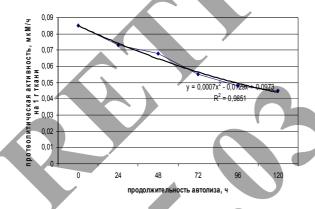


Рис. 2. Зависимость протеолитической активности кальпаина мышечной ткани мяса маралов от продолжительности автолиза

Для ускорения гликолиза в мясе широко используются различные способы обработки парных полутуш. Одним из способов улучшения качества мяса является обработка массированием в массажерах или в лопастных мешалках [1]. Для улучшения структурно-механических показателей мяса в массирующее устройство дополнительно вводят раствор с поваренной солью. Массирование мяса маралов производилось в фаршемешалке Л5-ФМБ в течение 10 часов.

При массировании мяса значительно увеличилась протеолитическая активность кальпаинов (рис. 3).

Так, протеолитическая активность кальпаинов парного мяса маралов без механической обработки составила 0,079 мкМ/ч на 1 г ткани, а в массированном парном мясе маралов составила 0,1 мкМ/ч на 1 г ткани. В контрольном продукте (говядине) все процессы протекали значительно медленнее. Установлено, что тенденция снижения активности кальпаинов при созревании сохраняется также и после применения массирования. Показано, что первоначальная активность кальпаинов на 2-е сутки созревания выше в немассированном мясе, чем в массированном.

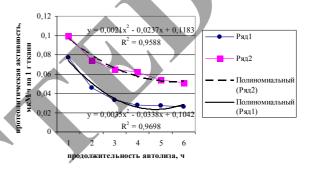


Рис. 3. Влияние массирования на активность кальпаинов мышечной ткани мяса маралов в зависимости от продолжительности автолиза: ряд 1 – контроль; ряд 2 – опыт

Изучено влияние массирования на изменение концентрации кальция в процессе созревания мышечной ткани мяса маралов (рис. 4). Основные функции кальция в мышечной ткани заключаются в следующем:

- ионы кальция являются кофакторами многих ферментов и неферментных белков;
- ионы кальция во взаимодействии с белком кальмодулином служат посредниками в передаче регуляторных сигналов [2].

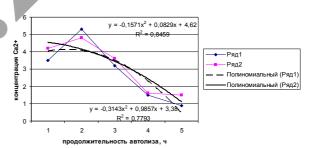


Рис. 4. Изменение концентрации ${\rm Ca}^{2^+}$ в процессе автолиза мышечной ткани мяса маралов: ряд 1 — опыт; ряд 2 — контроль

Пороговая величина поляризации, вызывающая нервный импульс, зависит от концентрации ионов Ca^{2+} .

Результаты полученных данных показали, что массирование в 1-е сутки созревания не приводит к изменению концентрации кальция в мышечной ткани. На 2-е и 3-е сутки созревания скорость высвобождения ионов кальция являлась максимальной. На 4-е и 5-е сутки скорость высвобождения кальция в саркоплазме клеток мышечной ткани значительно замедлилась. Массирование не повлияло на изменение

концентрации кальция в 1-е сутки созревания в контрольном продукте, однако способствовало увеличению концентрации на 2-е сутки и уменьшению высвобождения кальция из мышечной ткани в последующие часы созревания.

В клеточных мембранах мышечной ткани имеется Са-АТФаза, которая за счет энергии аденозинтрифосфорной кислоты (АТФ) переносит ионы ${\rm Ca}^{2+}$ против градиента концентрации (два иона на одну молекулу гидролизуемой АТФ).

В саркоплазматическом ретикулуме Ca-ATФаза составляет больше половины всех белков мембраны; она является частью механизма, регулирующего цикл сокращения – расслабления мышечного волокна.

Исследовано содержание аденозинтрифосфатазы в мясе маралов и контрольном продукте (говядине) (рис. 5).

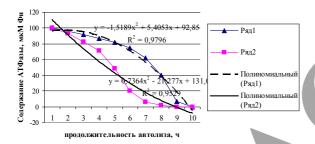


Рис. 5. Изменение содержания аденозинтрифосфатазы в мясе маралов в процессе автолиза: ряд 1 — контроль; ряд 2 — опыт

В парном мясе содержание аденозинтрифосфатазы являлось максимальным. В последующие часы созревания содержание аденозинтрифосфатазы значительно уменьшилось. При достижении 16–18 часов созревания мяса маралов аденозинтрифосфатаза инактивировалась полностью.

Изучено изменение активности катепсинов мяса маралов в процессе массирования (рис. 6).

Анализ экспериментальных данных показал, что максимальная активность катепсинов в мясе маралов наблюдается на 3-й час массирования, а в последующие часы незначительно снижается. Это

объясняется тем, что вследствие механического воздействия происходит разрушение лизосомальных мембран, которое приводит к ускоренному выходу ферментов из мест их локализации [2]. В контрольном продукте активность катепсинов незначительно увеличилась за весь период массирования.

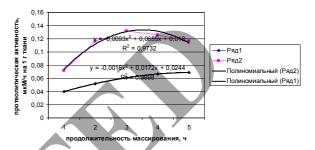


Рис. 6. Изменение активности катепсинов мяса маралов в процессе массирования; ряд 1 – контроль; ряд 2 – опыт

Применение биохимических и физических воздействий при посоле мяса маралов дает существенный технологический эффект и обеспечивает выпуск готового продукта, отличающегося повышенной нежностью, достаточной сочностью и более высоким выходом при значительном сокращении длительности технологического цикла. Это объясняется тем, что механическая обработка мяса во вращающейся емкости приводит к возникновению в мясе градиента давлений за счет соударений кусков мяса о стенки массажера, вследствие чего перераспределение посолочных веществ приобретает фильтрационный характер помимо продолжающегося диффузионно-осмотического переноса. Интенсивному переносу посолочных компонентов способствует также разрыхление структуры при инъекции, массировании сырья и действия используемых препаратов. Совокупность указанных изменений обеспечивает ускорение распределения посолочных веществ и интенсификацию физико-химических и биохимических процессов, обусловливающих формирование необходимых показателей мясных продуктов.

Список литературы

- 1. Узаков, Я.М. Научно-практические аспекты комплексной переработки баранины: автореф. дис. ... д-ра техн. наук: 05.18.04: защищена 17.10.2006 / Узаков Ясин Маликович. Кемерово, 2006. 39 с.
- 2. Кудряшов, Л.С. Влияние электростимуляции на внутриклеточную концентрацию ионов кальция и активность кальпаина мышечной ткани с различным характером автолиза / Л.С. Кудряшов, А.В. Полякова, О.А. Кудряшова // Хранение и переработка сельхозсырыя. − 2001. − № 5. − С. 26–28.
- 3. Антипова, Л.В. Методы исследования мяса и мясных продуктов: учебник для вузов / Л.В. Антипова, И.А. Глотова, И.А. Рогов; ред. Н.В. Куркина. М.: Колос, 2001. С. 288–292.
- 4. Пат. 2062472 Российская Федерация, G01N33/68, G01N33/48. Способ определения активности аденозинтрифосфотаз поверхностной клеточной мембраны клеток эукариот / С.Н. Москвина, В.Я. Арион; заявитель и патентообладатель С.Н. Москвина. № 93054880/14; заявл. 09.12.1993; опубл. 20.06.1996.

Казахский агротехнический университет им. С. Сейфуллина, 010000, Республика Казахстан, г. Астана, пр. Победы, 116. e-mail: agun.katu@gmail.com

SUMMARY

I.M. Uzakov, L.A. Kaimbaeva

Activity Changes of Siberian Stag Meat Tissue Proteinases at Different Stages of Autolysis

The article deals with the research on tissue enzymes activities – cathepsins and calpains – of Siberian stag meat muscle in the process of autolysis. To accelerate the process of meat autolysis the authors used a mechanical treatment in massaging devices.

Siberian stag meat, proteolytic enzymes, cathepsins, calpains, massaging, autolysis.

Almaty technological university 100, str. Tole bi, c. Almaty, 050012, Kazakhstan Phone: 8(727) 293-52-89

e-mail: rector@atu.kz

S. Seifullin Kazakh Agro Technical University 116, Prospect Pobedy, Astana, 010000, Kazakhstan e-mail: agun.katu@gmail.com

