

**МІНІСТЕРСТВО АГРАРНОЇ ПОЛТИКИ УКРАЇНИ  
ЛЬВІВСЬКА НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ ВЕТЕРИНАРНОЇ  
МЕДИЦИНИ імені С.З.ГЖИЦЬКОГО**

Кафедра технології м'яса, м'ясних і  
олійно-жирових виробів

**НАВЧАЛЬНИЙ ПОСІБНИК**

із дисципліни

**Фізико-хімічні та біохімічні основи технології м'ясних продуктів  
для студентів денної та заочної форм навчання  
за спеціальністю 7.091707  
„Технологія зберігання, консервування  
та переробки м'яса”**

**ЛЬВІВ 2006**

УДК 637:043(07)

ББК 35.782(07)

**Кравців Р.Й., Паска М.З. Ощипок І.М.** Навчальний посібник із дисципліни „Фізико-хімічні та біохімічні основи технології м'ясних продуктів” для студентів денної та заочної форм навчання за спеціальністю 7.091707 „Технологія зберігання, консервування та переробки м'яса”. – Львів, 2006.– 58 с.

**Рецензент:**

*Остап'юк Ю.І.* – професор кафедри ветеринарно-санітарної, радіологічної експертизи та екології

Рекомендовано до друку методичною комісією факультету харчових технологій, протокол №19 від 13.09. 2005.

**Навчально-методичне видання**

© Кравців Р.Й., 2006

© Паска М.З., 2006

© Ощипок І.М., 2006

## Вступ

Фізико-хімічні та біохімічні основи технології м'яса – дисципліна спеціального лекційно-лабораторного циклу для підготовки фахівців із спеціальності 7.091707 – «Технологія зберігання, консервування та переробки м'яса».

Основною метою вивчення дисципліни «ФХБОТМ» є забезпечення можливості отримання певної ерудиції у питанням біохімічних перетворень в тканинах і органах після забою. При переробці тваринної сировини на всіх її етапах у більшості випадків відбуваються біохімічні і зв'язані з ними фізико-хімічні перетворення різних компонентів вихідної сировини. Розробка і вдосконалення технологічних процесів, обґрунтування правильності режимів повинні проводитися з врахуванням цих перетворень. Якість готових виробів залежить в основному від змін білків у процесах технологічної обробки тваринної сировини, тому вивчено фізико-хімічні та біохімічні властивості тварин, а також їх мін у результаті впливу різних факторів однією із важливих задач даної галузі.

Дисципліна «ФХБОТМ» базується на дисципліні: «Біохімія», «Фізіологія та гігієна харчування», «Теоретичні основи технології харчових виробництв» та ін. Вона забезпечує вивчення дисципліни вузького фахового напрямку і на основі отриманих знань – вибір у майбутньому певної вузької спеціальності, що в подальшому дасть можливість працювати на посадах, які потребують широкого діапазону знань харчових технологій.

Даний навчально-методичний посібник складений відповідно до базових навчальних програм підготовки інженерів-технологів за професійним напрямом 6.0917 – «Харчова технологія та інженерія». При написанні посібника автор використав матеріали подані у списку літератури. Детальне подання контрольних запитань після контрольної теми дозволяє використовувати даний посібник як для стаціонарної так і для заочної форм навчання.

### Тема 1. Харчові властивості м'яса

Під словом "м'ясо" ми розуміємо сукупність всіх компонентів організму тварин, які використовують як сировину для виробництва м'ясних продуктів. М'ясні продукти відрізняються від продуктів рослинного походження повним складом амінокислот, вмістом жирів та інших компонентів, які обумовлюють їх харчову цінність. В м'ясі є всі незамінні амінокислоти, в тому числі дефіцитні — лізин, метіонін, триптофан, яких дуже мало або зовсім немає в рослинах. Це створює проблему забезпечення людини і тварин повноцінними джерелами живлення. М'ясо містить також багато вітамінів, які нагромаджуються в організмі тварин при споживанні рослинного корму.

М'ясо різних тварин відрізняється за хімічним складом. Це також залежить від віку, фізіологічного стану та умов годівлі та утримання тварин.

Харчову цінність м'яса звичайно зумовлює амінокислотний й склад білків. Повноцінність білків залежить від вмісту дефіцитних амінокислот, особливо триптофану. Повноцінність м'яса знижує наявність білків сполучної тканини, яка зовсім не містить триптофану, хоча ця тканина теж є важливим компонентом м'яса. Для білків сполучної тканини характерна наявність амінокислоти оксипроліну, якої немає в інших білках. Тому про повноцінність м'яса різного походження можна судити по відношенню кількості триптофану і оксипроліну. Це відношення найбільш високе у свинині (дорівнює 7,2), порівняно низьке у баранині (біля 5,2), у яловичині та курятині ця величина коливається в межах 6,4-6,7.

Якість м'яса оцінюється насамперед за вмістом основних компонентів — білків, жирів, а також загальної кількості сухих речовин та мінеральних сполук. В табл. 1 наведено дані про вміст цих компонентів в м'ясі різного походження.

За вмістом сухих речовин взагалі (тобто за вологістю) великої різниці не спостерігається, за виключенням жирної свинини, де вологість дорівнює 47,5 %. В інших випадках ця величина, в середньому, наближається до 70 %. Вміст білків коливається в більшості випадків у межах 16-20 %, за виключенням жирної свинини, де вміст білків знижується за рахунок великої кількості жирів. Щодо жирів, то найбільший їх вміст, у м'ясі свинини. В останньому випадку це залежить від категорії м'яса та віку тварин.

Харчова цінність продуктів будь-якого походження залежить від вмісту білків, а цінність білків зумовлює їх амінокислотний склад, а саме кількість незамінних амінокислот. Ці амінокислоти є в достатній кількості в м'ясі різних тварин, їх вміст не є постійним, але можна навести дані про середню кількість амінокислот в білках тваринного походження у відсотках до загальної кількості білка таблиця 1 :

Таблиця. 1

Кількість амінокислот у білках

Лізин	7,8
Лейцин	7,5
Треонін	5,1
Валін	5,0
Ізолейцин	4,9
Фенілаланін	4,1
Метіонін	2,5
Триптофан	1,4

Таблиця 2

Хімічний склад м'яса різних тварин (середні дані)

Походження м'яса	Вміст компонентів, %				Калорійність, Ккал/100 г
	вода	білки	жири	зола	
Яловичина 1 категорія	70,5	18,0	10,5	1,0	171
Яловичина 2 категорія	74,5	21,0	3,8	1,1	21
Баранина 1 категорія	65,8	16,4	17,0	0,8	225
Баранина 2 категорія	69,4	20,8	9,0	0,8	169
Свинина 1 категорія	47,5	14,5	37,3	0,7	406
Свинина 2 категорія	60,9	16,5	21,5	1,1	268
Телятина	72,8	19,0	7,5	0,7	147
жирна пісна	78,2	20,0	0,5	1,3	87
М'ясо кролів	69,3	21,5	8,0	1,2	162

Курятина	65,5	19,8	13,7	1,0	200
Гусятина	48,9	18,2	38,1	0,8	369
Індичатина	60,0	19,9	19,1	1,1	250
Качатина	49,4	13,0	37,0	0,6	365

Як видно з даних наведених в таблиці 2, навіть тваринний білок містить відповідно малу кількість дефіцитних амінокислот — метіоніну та триптофану. Причому ця закономірність характерна для всіх білків взагалі.

Таблиця 3  
Склад незамінних амінокислот білків різного походження

Амінокислоти	Вміст амінокислот, %		
	Яловичина	Свинина	Баранина
Лізин	8,1	7,8	7,6
Лейцин	8,4	7,5	7,4
Треонін	4,0	5,1	4,9
Валін	5,7	5,0	5,4
Ізолейцин	5,1	4,9	4,8
Фенілаланін	4,0	4,1	3,9
Метіонін	2,3	2,5	2,3
Триптофан	1,1	1,4	1,3

Як видно з таблиці, у складі всіх білків найменший вміст амінокислот — метіоніну та триптофану. Це можна було б пояснити тим, що ці амінокислоти мають найменшу кількість кодів в генетичному апараті всіх істот, але цьому не відповідає лізин, який теж має всього два коди, проте найбільшу кількість з усіх незамінних амінокислот.

Практично всі компоненти організму тварин використовують як сировину для виробництва м'яса. До складу м'ясних продуктів відносяться також і ті речовини, що утворилися в процесі переробки м'ясної сировини і мають значення для формування якості м'яса.

Складові частини тварин, які використовують в м'ясному виробництві, звичайно мають назву тваринних тканин, а саме: м'язова тканина, сполучна тканина, кісткова тканина, жирова тканина, покривна тканина, кров. Відносна кількість тканин у м'ясі приблизно становить (в %):

М'язова тканина	60-60
Жирова тканина	3-20
Кісткова тканина	15-22
Сполучна тканина	9-14

Кожна тканина виконує особливу функцію в життєдіяльності тварин. В певній мірі це пов'язано з технологічним значенням тваринних тканин. Наприклад, робота м'язів супроводжується зміною складу речовин — вмістом глікогену, АТФ, співвідношенням білків міофібрил, нагромадженням молочної кислоти тощо. Для уявлення про це необхідне знання механізму скорочення м'язів.

Різноманітну роль в життєдіяльності тварин відіграє сполучна тканина. Хімічний склад, фізіологічний стан і фізична структура цієї тканини пов'язана з її функцією. В той же час це має значення і для технології. Вихід м'яса та якість м'ясних продуктів залежить від кількості і форми сполучної тканини, а це, в свою чергу, від фізіологічного стану тварини.

Щодо покривної тканини, то всі проблеми використання її як сировини для харчових продуктів пов'язані з особливостями хімічної структури, тобто міцністю цієї тканини. Саме ця особливість обумовлює фізіологічну (життєву) функцію покривної тканини, тобто шкіри та її дериватів — волосся, рогів, копит.

Функції крові в організмі, властивості її формених елементів, їх складових частин і речовин, що обумовлюють згортання крові, майже повністю співпадає з їх значенням в технології. Тому технологу необхідні знання речовин і процесів, що відбуваються в крові, та методик визначення її компонентів.

Жирова тканина в організмі тварин виконує, головним чином, роль резервного енергетичного матеріалу, а також сировини для синтезу біологічно активних речовин. В технології має значення хімічний склад цієї тканини і особливо хімічні зміни в жирах при зберіганні. Отже, в технології необхідні і відповідні методи дослідження.

Головну роль в технології виробництва м'ясних продуктів, безумовно, виконують білкові речовини тваринних тканин. Це



стосується м'язової, сполучної, покривної тканин і навіть крові. Тому м'ясні продукти і є джерелом тваринного білка для людини. Жирова тканина містить ліпіди, головним чином жири (тригліцериди) і невелику кількість білків, проте для підвищення якості м'ясних продуктів необхідна певна кількість жирів.

В технології м'яса велике значення мають і небілкові речовини. В першу чергу, це біологічно активні речовини, які знаходяться в м'язах у розчиненому вигляді. В технології їх називають екстрактивними речовинами м'язів. Кількість їх порівняно мала, тому що вони не є конструктивними речовинами організму. Роль цих речовин в фізіології і технології зовсім не співпадає: в організмі вони регулюють процеси обміну речовин, в технології — це найважливіші компоненти смаку продуктів. Тому в технології, безумовно, є необхідність знання будови і методик визначення цих речовин.

В технології м'яса має значення велика кількість низькомолекулярних речовин, які частково є в тканинах живого організму тварин, але головним чином нагромаджуються в процесі підготовки м'яса і при виготовленні м'ясних продуктів. До цих речовин відносяться карбонільні, карбоксильні сполуки, спирти, ефіри, тіосполуки, меркаптани, продукти розкладу амінокислот — аміни, а також вільні амінокислоти. Серед цих речовин багато продуктів мікробного або авто-літичного псування м'яса, але всі вони в невеликій кількості є необхідними компонентами смаку та аромату м'яса. В більшій кількості — це отруйні речовини. Саме це вказує на необхідність їх вивчення і визначення в м'ясних продуктах.

Особливе місце в методичному плані повинні займати дослідження жирних кислот і продуктів їх розкладу. Наявність вільних жирних кислот свідчить про розклад жирів. Це небажаний, негативний процес. Але більш негативним є розклад, хімічне окислення не-насичених жирних кислот з утворенням багатьох шкідливих продуктів і навіть вільних радикалів.

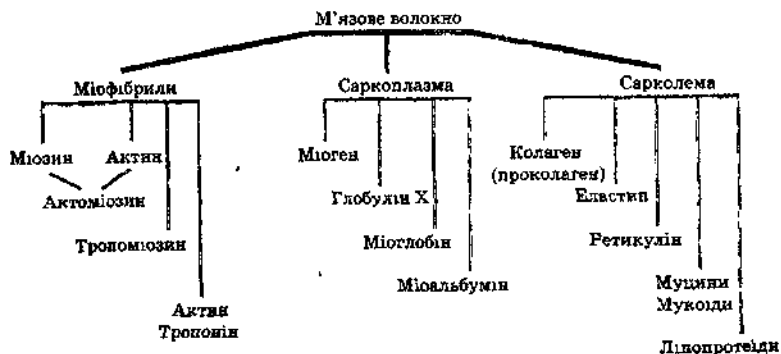
Все сказане свідчить про необхідність впровадження у виробництво м'яса існуючих біохімічних методів та розробки методик аналізів, яких до цього часу ще немає.

## Тема 2. М'ЯЗОВА ТКАНИНА

М'язова тканина становить біля 40% маси тіла тварин і є основою для виробництва м'ясних продуктів. В організмі вона виконує механічну функцію, тобто обумовлює рух (скелетна мускулатура), а також органів дихання, травлення, виведення продуктів обміну тощо (гладенька мускулатура). Найбільше значення для технології являє собою скелетна мускулатура. Структурним елементом її є м'язове волокно. Це багатоядерна величезна клітина діаметром від 10 до 100 мкм. Довжина її досягає 12 см. Вона вкрита оболонкою, яка називається сарколемою. Основну масу м'язового волокна становлять міофібрили — нитки білкових речовин. Простір між ними заповнює напіврідка речовина — саркоплазма, в якій розташовані всі елементи (органели) живої клітини — ядро, мітохондрії, мікросоми тощо.

Всі структури м'язового волокна складаються з білків і мають технологічне значення. До 50 % білків м'язової тканини містять міофібрили і до 40 % білків — в саркоплазмі. Розподіл основних білків в структурних елементах м'язової тканини можна уявити у вигляді такої схеми:

Уявлення про структуру м'язового волокна дає рис. 1.



### Білки міофібрил

Білки міофібрил — міозин, актин, тропоміозин і деякі інші називають скорочувальними білками, тому що вони відповідають за скорочення (роботу) м'язів.

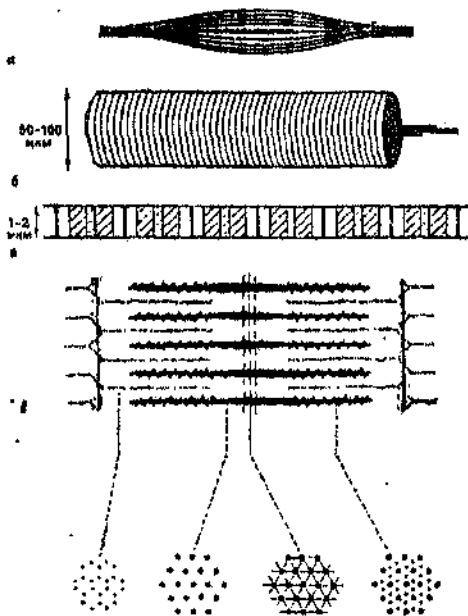


Рис. 1. Структура м'яза і м'язового волокна:

а — загальний вигляд; б — м'язове волокно; в — міофібрила; г — розташування актину (тонкі нитки) і міозину (товсті нитки) в міофібрилах

**Міозин** — основний білок м'язів. Кількість його становить біля 50 % всіх білків м'язової тканини. Цей білок легко взаємодіє з іншими білками і різними компонентами міофібрил, що заважає його виділенню в чистому вигляді. Тому виділення міозину здійснюють в певних умовах шляхом швидкого екстрагування із свіжих подрібнених м'язів, при зниженій температурі 0,6 М "розчином KCl у фосфатному буфері при рН 6,5. Одержаний екстракт швидко розбавляють водою. Міозин можна одержати в

кристалічному вигляді. Молекулярна маса міозину наближається до 500 000. Міозин добре зв'язує кальцій і реагує з АТФ. Молекула міозину складається приблизно з 5 000 залишків амінокислот, містить всі незамінні амінокислоти. Найбільшу кількість становлять залишки лізину, лейцину аргініну, аспарагінової та глутамінової амінокислот (табл. 3). Біля 30 % становлять дикарбонові амінокислоти, тобто це кислий білок, чим пояснюється його здатність зв'язувати іони кальцію та інших елементів. Ізоелектричний пункт міозину відповідає рН 5,4. В міозині багато SH-груп цистеїну. Вміст цистеїну дорівнює 1,4 % всіх амінокислот. Наявність SH-груп, очевидно, зумовлює АТФ-азну активність.

Молекула міозину складається з 4-х поліпептидних ланцюгів: два великих і два малих ланцюги. Великі ланцюги мають форму  $\alpha$ -спіралі і закручені між собою. Малі ланцюги є продовженням великих ланцюгів, знаходяться у вільному стані і мають кулеподібний вигляд (рис. 2).

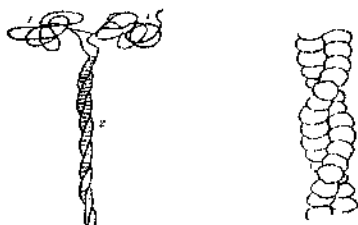


Рис. 2. Будова молекул міозину та актину; а — міозин; / — глобулярна «головка»; 2 — фібрилярний «хвіст»; б — подвійна спіраль Г-актину

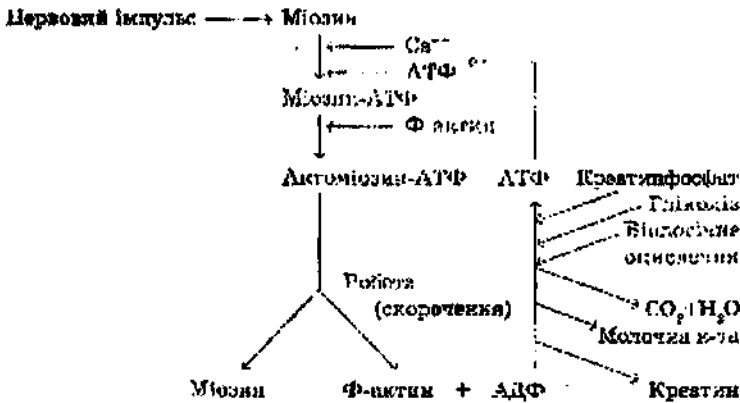
Актин становить до 15 % білків м'язів. Існує в двох формах — в глобулярній (Г-актин) і фібрилярній (Ф-актин). Молекулярна маса їх відповідно 47 000 і 94 000. З двох молекул Г-актину в присутності іонів магнію утворюється молекула Ф-актину, тобто димер. При підвищених концентраціях магнію Ф-актин перетворюється в полімер:



Ф-актин-полімер знаходиться у вигляді подвійної спіралі.

Кожна спіраль містить 200-300 глобул Г-актину (рис. 2). Ф-актин утворює з активованим міозином комплекс, який здатний до скорочення. Г-актин також взаємодіє з міозином, але цей комплекс не проявляє здатності до скорочення.

**Актоміозин.** Це комплекс з актину і міозину. При утворенні актоміозину молекули міозину прикріплюються своїми головками до намистинок Ф-актину через SH-групи міозину і OH-групи актину. Таким чином кожна нитка Ф-актину-полімеру зв'язує багато молекул міозину і утворюються великі нитки актоміозину. Він не розчиняється у воді. В присутності АТФ відбувається швидке скорочення ниток актоміозину. Цей механізм лежить в основі



скорочення м'язів. Його можна представити у вигляді схеми:

Під впливом нервового імпульсу, який поступає в м'язи через саркозізматичний ретикулум, міозин в присутності іонів кальцію взаємодіє з АТФ. Комплекс міозин-АТФ з'єднується з Ф-актином, внаслідок чого утворюється комплекс актоміозин-АТФ, який здатний до скорочення (роботи). Після акту скорочення комплекс розпадається на складові частини, але АТФ втрачає один фосфатний залишок, тобто відбувається гідроліз АТФ. Енергія гідролізу використовується на роботу. Міозин і актин звільнюються для нового акту скорочення. Кожен акт скорочення продовжується від 0,01 до 0,1 секунди. Звідси видно, що робота м'язів потребує великої кількості АТФ. Можна сказати, що скорочення м'язів — це оборотні зміни білкових компонентів за рахунок АТФ. Регенерація АТФ, тобто встановлення її кількості, відбувається відомими

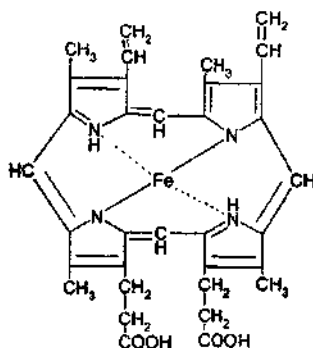
шляхами — за рахунок анаеробного розкладу глікогену (глікогенолізу), біологічного окислення і в певній мірі — за рахунок макроергічного креатинфосфату. До білків міофібрил відноситься також тропоміозин, кількість якого становить біля 2,5% м'язових білків. Тропоміозин розчиняється у воді. У м'язах він зв'язаний з нерозчинними білками, тому його неможливо вилучити з м'язів водою. Це фібрилярний білок. Він складається з двох поліпептидів — тропоміозину В і тропоніну. Вони виконують функцію передачі кальцію. Тропоміозин здатний до з'єднання з Ф-актином, тобто бере участь в скороченні м'язів. Тропоміозин — неповноцінний білок, він не містить триптофану.

### Білки саркоплазми

Білки саркоплазми становлять значну кількість білків м'язової тканини, тому більшість з них мають технологічне значення. До них відносяться: міоглобін, міоцени, глобулін Х, міоглобулін, міоальбумін.

**Міоглобін (Mb)** — складний білок, хромопротеїд, молекулярна маса якого — 19 600. Складається з простого білка глобіну (група гістонів) та небілкової частини — гема. Від гемоглобіну (Hb) відрізняється структурою білка глобіну, небілкова частина в тому і другому випадках одна — гем:

Міоглобін називають дихальним пігментом, по-перше, тому, що він бере участь в постачанні клітин киснем, по друге — він

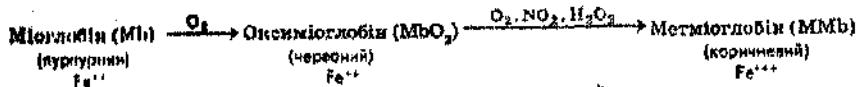


забарвлений в червоний колір (як і всі білки — хромопротеїди, які містять у порфіриновій частині залізо, тобто, які є залізопорфіринами).

Міоглобін легко взаємодіє із газами (O<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub>, NO та ін.).

Міоглобін виконує функцію передачі кисню клітинам м'язів від гемоглобіну крові. Він більш активно зв'язує кисень, ніж гемоглобін. В більшій кількості він знаходиться там, де м'язи виконують велику роботу, наприклад, в м'язах ніг (тому ноги більш забарвлені, ніж інші частини тіла). Міоглобін може бути також резервом кисню для клітин м'язів, якщо вони не постачаються киснем від гемоглобіну (наприклад, при зупиненні дихання під водою або за іншими причинами).

Залежно від ступеня окислення міоглобін набуває різних форм, які мають різний колір:



Порфіринова частина в молекулі метміоглобіну носить назву геміну або гематину. Відновлення метміоглобіну можливе лише за допомогою сильних відновлювачів, наприклад аскорбінової кислоти. При з'єднанні з СО утворюється карбоксиміоглобін (MbCO), вишнево-червоного кольору.

З NO утворюється нітрозоміоглобін (MbNO), червоного кольору.

**Міоглобін** — повноцінний білок. Ізоелектричний пункт відповідає  $pH$  7,0, розчиняється у воді.

**Міоген** — це група білків (міогени А, В, С). Кількість їх становить біля 20 % білків м'язів. Вони виконують ферментативні функції, пов'язані із перетворенням вуглеводнів, зокрема проявляють альдолазну, дегідрогеназну, інвертазну та іншу ферментативну активність. Близькі до альбумінів за фізико-хімічними властивостями, але молекули їх мають глобулярну форму. Ізоелектричний пункт знаходиться в межах  $pH$  6,0-6,57, добре розчиняється у воді, висолюється в насиченому розчині сульфату амонію.

**Глобулін Х** відноситься до псевдоглобулінів, оскільки розчиняється у воді при незначній кількості солей. Біологічна роль не зовсім ясна. За деякими даними, також складається з фракцій, деякі з них, можливо, проявляють ферментативну активність.

**Міоальбумін** — типовий альбумін, розчиняється в воді, осаджується в насиченому розчині сірчанокислого амонію. Ізоелектричний пункт при  $pH$  3,0-3,5.

В саркоплазмі є нуклеопротейди, але кількість їх дуже мала.

### **Білки сарколеми (строми)**

**Строма** — в перекладі на українську мову підстилка, опорна структура тканини, тобто сукупність оболонок (сарколем), які оточують м'язове волокно, а також покривають багато інших структур (стінки судин, оболонки нервів, різних органел, формених елементів тощо).

За хімічним складом ця сукупність оболонок, тобто строма, відноситься до сполучної тканини, хоча остання виконує особливу, опорну функцію в організмі і розглядається окремо. В даному ж випадку — це складова частина м'язів. Експериментальні дослідження білків строми можна здійснювати паралельно з білками м'язів, а також окремо, залежно від мети експериментів.

Основні білки строми — колаген, еластин, ретикулін. Вони не розчиняються в воді і навіть в сольових розчинах, їх можна екстрагувати лише лугом, але при цьому методи відокремлення білків сполучної тканини від інших складових частин м'язів дуже крпіткі (див. розділ "Сполучна тканина").

Серед білків строми є г्लюкопротейди — муцини, мукоїди, які можна вилучити лужним розчином.

**Білки ядер** — нуклеопротейди, кислий білок та інші. Вони не мають технологічного значення за невеликою кількістю. До того ж вони не повноцінні, тому що не містять триптофану. Розчиняються в лузі.

М'язова тканина містить багато ферментів. Тут є всі ферменти гідролізу, ферменти, які беруть участь в скороченні м'язів, протеолітичні ферменти, ліпази тощо. В м'язовій тканині відбувається біологічне окиснення, тому там є всі ферменти, що здійснюють цей складний процес. Всі ферменти — білки, тому вони доповнюють загальну кількість білків м'язової тканини, хоча в кількісному відношенні в незначній мірі.

Практично всі білки м'язів повноцінні за амінокислотним складом (табл. 3).

Всі білки м'язів відрізняються відносно великою кількістю дефіцитної амінокислоти лізину, але кількість метіоніну і триптофану незначна навіть у м'ясі. Це, очевидно, є відображенням амінокислотного складу рослин, що, в свою чергу, обумовлено недоліком кодів для цих амінокислот в генетичному апараті рослин. Проте ця закономірність, чомусь, не розповсюджується на лізин.



### Тема 3. СПОЛУЧНА ТКАНИНА

Ця група тканин, різноманітних за своєю функцією і фізико-хімічним станом. Сюди відносяться власне сполучна тканина (рихла і щільна), хрящева і кісткова тканини. До рихлої сполучної тканини відноситься жирова тканина.

Таблиця 3

Амінокислотний склад основних білків м'язів

Амінокислоти	Вміст амінокислот в білках, %				
	Міозин	Актин	Міоген А	Тропоміозин	Міоглобін
Аланін	6,5	6,3	8,56	8,8	7,25
Гліцин	1,9	5,0	5,61	0,4	5,85
Валін	2,6	4,9	7,4	3,13	4,09
Лейцин	15,6	8,25	11,5	15,6	16,8
Ізолейцин		7,5			
Пролін	1,9	5,1	5,71	1,3	3,34
Фенілаланін	4,3	4,8	3,06	4,6	5,09
Тирозин	3,4	5,8	5,31	3,1	2,4
Триптофан	0,8	2,05	2,31	0,0	2,34
Серин	4,33	5,9	7,3	4,38	3,46
Треонін	5,1	7,0	7,47	2,9	4,56
Цистин	1,4	1,34	1,12	0,73	0,0
Метіонін	3,4	4,5	1,17	2,8	1,71
Аргінін	7,36	6,6	6,33	7,8	2,2
Гістидин	2,41	2,9	4,21	0,85	8,5
Лізін	11,92	7,6	9,54	1,57	1,55
Аспарагінова кислота	8,9	10,3	9,7	9,1	8,2
Глютамінова кислота	22,1	14,8	11,4	3,29	16,48

Всі види сполучної тканини завжди присутні в м'ясі і є дуже важливими елементами м'ясних продуктів. Сполучну тканину не можна розглядати як окрему частину організму. Вона знаходиться у всіх органах і тканинах. Сполучної тканини багато в м'язах, її важко відокремлювати від інших білків м'язів, тому вона досліджується

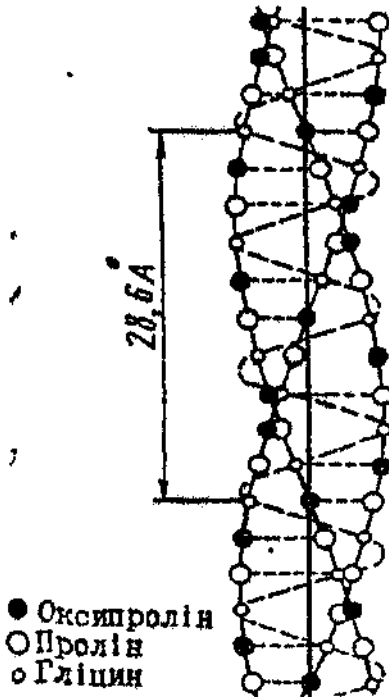


Рис. 3. Спіраль колагену з 3-ох пептидів

колаген. Це дуже розповсюджений білок, він становить біля 1/3 частини всіх білків.

Колаген відрізняється особливістю амінокислотного складу. Він містить мало метіоніну і тирозину. В колагені зовсім немає триптофану та цистеїну. Це неповноцінний білок. В колагені біля 25% гліцину біля 25% проліну і оксипроліну. Наявність останніх порушує форму спіралі.

Молекули колагену об'єднуються в структури по три поліпептиди які закручуються разом навколо загальної осі (рис. 3).

Цю структуру називають тропоколагеном. Молекулярна маса колагену 1 200, тропоколагену — 3 600.

**Колаген** — стійкий білок в механічному і хімічному відношенні. Він не розчиняється у воді, органічних розчинниках, на нього повільно діють кислоти, луг і навіть ферменти. Стійкість

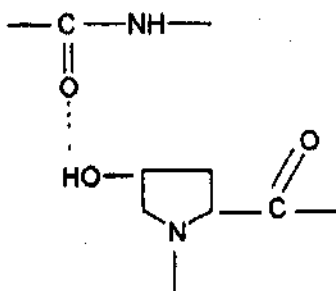
поряд з білками міофібрил, сарколеми. Лише хрящова та кісткова сполучні тканини становлять окрема частину організму.

Сполучна тканина становить біля 16% туші тварин. Сполучна тканина складається з основної (аморфної, напіврідкої) речовини, в якій розташовані формені елементи — клітини та тонкі нитки білків колагену і еластину (рис. 4). Залежно від вмісту кальцію та інших солей сполучна тканина набуває різного ступеня щільності і перетворюється в сухожилля, хрящову та кісткову тканини.

### Білки сполучної тканини

Основним білком сполучної тканини є

колагену обумовлює наявність поперечних зв'язків в його молекулі. Вони виникають внаслідок утворення водневих зв'язків між пептидними групами та залишками оксипроліну:



Колаген має високу здатність до набухання. В цьому відношенні він займає друге місце після міозину. Це пояснюється великою кількістю вільних (полярних) аміних, карбоксильних груп лізину, аргініну, аспарагінової та глутамінової амінокислот, а також ОН-груп серину, треоніну, тирозину. Ізоелектричний пункт колагену різного походження коливається між  $pH$  6,36-7,0.

При нагріванні з водою відбувається порушення зв'язків, що утримують його в натуральному стані, частково руйнуються пептидні зв'язки, карбоксильні групи. Внаслідок цього утворюються високо-і низькомолекулярні продукти. В першому випадку колаген перетворюється в желатин, а в другому – в клей. Зварений колаген (желатин) легко перетравлюється трипсином. Чим більше в колагені оксипроліну, тим вища потрібна температура для його варіння. Чим більше набухає колаген, тим нижча температура варіння. З такого колагену одержують найкращий желатин.

Характерна особливість желатину — утворення гелю (холодцю). Міцели гелю мають слабкі зв'язки. При нагріванні до  $45^{\circ}C$  зв'язки руйнуються і гель розчиняється. При кип'ятінні желатин втрачає здатність до утворення гелю (холодцю). Внаслідок тривалої обробки желатину гарячою водою утворюються низькомолекулярні пептиди, тобто клей.

Слід відмітити, що утворення і нормальний розвиток сполучної тканини пов'язаний із споживанням вітаміну С (аскорбінової кислоти), тому що процес окислення проліну і утворення водневого зв'язку між оксипроліном і пептидними

зв'язками відбувається з участю вітаміну С. Відомо також, що вітамін С швидко руйнується під впливом радіонуклідів, і це погано позначається на фізичному стані людини і тварин.

**Еластин.** Як і колаген, відноситься до склеропротеїдів. За амінокислотним складом подібний до колагену, містить оксипролін, але в 10 разів менше, ніж колаген. Існує у вигляді еластичних волокон (рис. 4). Більш стійкий, ніж колаген. Не містить триптофану та метіоніну. Неповноцінний. Погано засвоюється організмом. Гідролізується еластазою підшлункової залози. Не утворює желатину.

Ретикулін наближається до колагену та еластину, але більш стійкий, не розчиняється навіть у міцній кислоті і лузі.

### Власне сполучна тканина

Залежно від кількості колагенових, еластинових волокон та інших формених елементів буває рихла та сполучна тканина. Рихла тканина розповсюджується по всіх органах тіла. Вона оточує кровоносні та інші судини, м'язові волокна, з неї складається підшкірна клітковина. Вона виконує якби захисну функцію і є межею, яка розділяє всі органи, макро- і мікроструктурні елементи організму. Щільна тканина — це сухожилля, що прикріплюють м'язи до кісток, зв'язка між кістками тощо. Вона виконує опорну функцію. В ній мало основної речовини і багато волокон (рис. 4).

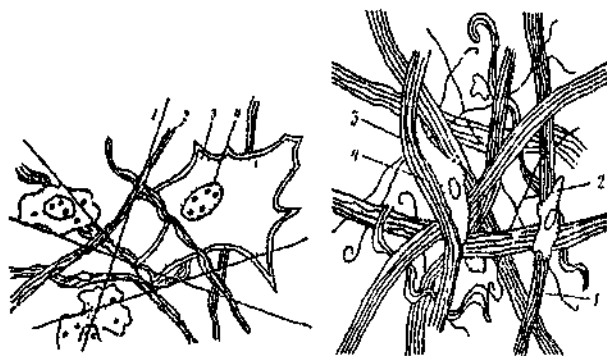


Рис. 4. Будова сполучної тканини.

а — рихла тканина, б — щільна тканина 7 — колагенові волокна,  
2 — еластинові волокна, 3 — клітина, 4 — ядро

### Хрящова тканина

Це напівтверда речовина, пружна, містить дуже багато волокон, виконує опорну функцію. Різні види хрящової тканини (гіаліновий, волокнистий, еластичний хрящі) входять до складу вушної раковини, гортані, зустрічаються на поверхні суглобів, трахеї, носової перегородки. Хрящева тканина містить багато мукопротеїдів (хондромукоїдів) і мукополісахаридів (хондроїтинсірчаної кислоти). Наявність цих речовин в желатині знижує його якість і міцність холодоцю, тому з хрящів неможливо одержати желатин і клей високої якості.

### Кісткова тканина

Кісткова тканина складається з кісткових клітин і міжклітинної речовини, яка містить багато колагенових волокон у вигляді пучків фібрил. Останні вкриті кристалами мінеральних солей, які міцно з'єднуються з фібрилами. Простір між фібрилами заповнений мукопротеїдами (остеомукоїдами) та мукополісахаридами, які склеюють між собою фібрили.

При обробці кісткової тканини кислотами розчиняються мінеральні солі і залишається колагенова основа. Мінеральні солі являють собою фосфати та карбонати кальцію.

Кістки забійних тварин становлять біля 20 % маси худоби, їх використовують для одержання желатину, клею, кісткової муки та жиру, який у великій кількості знаходиться в кістковому мозку.

В усіх видах сполучної тканини основними білками є колаген і еластин. Вони значно відрізняються кількісним складом амінокислот, але обидва неповноцінні, тому що не містять триптофану (табл. 4).

Таблиця 4

Амінокислотний склад білків колагену та еластину

Амінокислоти	Вміст амінокислот, %	
	Колаген	Еластин
Гліцин	26,6	29,9
Аланін	9,6	21,3
Лейцин	3,7	9,0
Ізолейцин	1,9	3,8
Валін	2,5	17,7
Триптофан	0,0	0,0

Фенілаланін	2,4	6,2
Тирозин	0,2	1,5
Серин	1,3	0,9
Треонін	2,3	1,1
Метіонін	0,8	0,1
Цистеїн	0,0	0,0
Аспарагінова к-та	6,8	0,4
Глутамінова к-та	11,2	2,4
Пролін	17,4	15,2
Оксипролін	14,6	1,6
Аргінін	8,2	1,3
Лізін	4,0	0,5
Гістидин	0,8	0,0

## Тема 4 . ДОСЛІДЖЕННЯ М'ЯЗОВОЇ ТА СПОЛУЧНОЇ ТКАНИН

В даному розділі розглядаються білки та інші речовини м'язів. Поряд з цим наведено методики визначення білків сполучної тканини, тому що ця тканина розповсюджена по всіх органах і тканинах організму. Вона знаходиться у вигляді окремих частин організму (хрящ, кістка тощо), а також є практично у всіх органах, в тому числі в значній кількості в м'язах — власне сполучна тканина. В даному випадку вона розглядається як складова частина м'язів. Інші форми сполучної тканини — хрящ, кістка — розглядаються як окремі складові частини організму. Відповідно з цим розглядаються і методи досліджень цієї тканини.

### Принципи виділення білків тваринних тканин

Для визначення білків будь-якої тварини або м'ясопродуктів необхідне їх виділення по можливості в чистому вигляді. В основі виділення лежать їх фізико-хімічні властивості, а саме здатність до розчину в різноманітних розчинниках, електрофоретичні, хроматографічні та інші властивості. Характерною особливістю білків є їх здатність до розчину та осадження в різних умовах. Кожен білок має свій ізоелектричний пункт, тобто значення  $pH$ , при якому він випадає в осад. Різні білки мають здатність розчинятись або випадати в осад в присутності солей. Саме на цьому основані методи виділення і розподіл білків. Але це достатньо важка задача, тому для розділення білків потрібен комплексний підхід до розробки методик, який максимально враховує їх поведінку в різних умовах.

Для дослідження білків треба розділити м'язову тканину. Навіть при цьому необхідно дотримуватись певних умов, маючи на увазі, що при руйнуванні м'язової тканини можуть змінюватись властивості білків та інших компонентів внаслідок дії ферментів, температури тощо. Тому ці операції треба провадити швидко і на холоді.

Виділення білків м'язової тканини засноване на їх здібності до розчину у воді і водно-сольових розчинах з різним  $pH$ , органічних розчинниках. Так, білки саркоплазми здатні до розчинення у воді, їх умовно розглядають як водорозчинні білки. Це в основному глобулярні білки, тому їх молекули краще взаємодіють з розчинником, ніж між собою. Інші білки м'язів фібрилярні, їх молекули міцно зв'язані між собою, тому для розчинення цих білків потрібні умови, які порушують

міжмолекулярне зчеплення. Така властивість притаманна розчинам солей з іонною силою вище 0,35 (іонна сила — це напівсума похідної концентрації іонів і квадрату їх валентності). До цих білків відносяться міофібрилярні, тобто скорочувальні білки, які виділяють за допомогою солей.

Білки сарколеми нерозчинні ні у воді, ні в сольових розчинах, тому що міцно утримуються в оболонках. Частину цих білків можна вилучити 0,25%-ним розчином їдкого натру. Але при цьому колаген і еластин виділяються лише частково, їх можна виділити повністю тривалим кип'ятінням.

Деякі білки — актин, тропоміозин пов'язані з ліпідами, тому для їх виділення треба руйнувати цей зв'язок.

Шляхом екстрагування 0,62 М КСІ з 0,01 М пірофосфатом при рН 6,2 можна перевести в розчин всі білки м'язової тканини, крім білків саркоплазми. Цей принцип застосовується для виділення суміші міозину і актоміозину з наступним одержанням міозину.

Слід відмітити особливості поведінки білків. Наприклад, глобулін Х екстрагується водою поряд зі всіма білками саркоплазми, але не тому, що він добре розчиняється в воді, а тому, що він розчиняється в присутності навіть невеликої кількості солей, які переходять в розчин із м'язів. Якщо ці солі видалити з розчину, наприклад шляхом діалізу, глобулін Х випадає в осад. Це й застосовується в методиці виділення глобуліну Х.

Використовуючи методи висоловання, адсорбції, діалізу, електрофорезу, хроматографії тощо, можна одержати чисті або майже чисті препарати різних білків.

### **Якісні дослідження білків м'язової та сполучної тканин**

Для якісних досліджень зручно проводити послідовне вилучення всіх білків з одного зразку м'язової тканини. Принцип вилучення ґрунтується на різній здатності до розчину: білки саркоплазми розчиняються у воді, білки міофібрил — в сольових розчинах, деякі білки м'язів розчиняються в лугах, а більшість білків строми переходять у розчин тільки при кип'ятінні.

### **Виявлення білків саркоплазми**

Білки саркоплазми екстрагують водою.

#### **Хід роботи**



10г м'язової тканини подрібнюють, екстрагують подвійним об'ємом дистильованої води і збовтують у шутель-апараті протягом 20-30 хв. Екстракт фільтрують через три шари марлі і екстракцію проводять ще два рази. Фільтрат зливають разом. Залишок м'язової тканини використовують для наступного сольового екстрагування.)

В екстракт переходять білки саркоплазми — міоген, глобулін X, міоальбумін і міоглобін. Наявність останнього надає екстракту червоного кольору. Для визначення білків в екстракті проводять біуретову реакцію.

Реактиви, див. біуретову реакцію.

### **Розділення білків саркоплазми**

З білків саркоплазми легко виділити глобулін X, використовуючи його здатність утворювати осад при зниженні концентрації солей в розчині. У водному екстракті м'язової тканини глобулін X перебуває в розчиненому стані тому, що в розчин переходять також солі м'язової тканини. Зменшити концентрацію солей в екстракті можна за допомогою діалізу.

#### *Хід роботи*

10 мл водного екстракту м'язів наливають в колодієвий мішечок (можна використовувати целофанову ковбасну оболонку, зав'язавши її з одного кінця), який занурюють в склянку з дистильованою водою або пропускають через проточну воду. Діаліз проводять 12 год. Білки як високомолекулярні колоїдні сполуки не проходять крізь пори напівпроникних мембран, а низькомолекулярні органічні й мінеральні речовини переходять через ці пори назовні, у воду. Зниження концентрації солей у водному екстракті м'язової тканини всередині діалізатора призводить до того, що глобулін X втрачає здатність розчинитись і випадає в осад.

Осад відокремлюють центрифугуванням чи фільтруванням, переводять осад в розчин 10%-ним хлоридом амонію і встановлюють білкову природу осаду біуретовою реакцією. У фільтраті (фугаті) залишаються білки альбумінової природи, переважно міоген, які не випадають в осад при зменшенні концентрації солей. Їх наявність можна підтвердити біуретовою реакцією.

Реактиви, 10%-ний розчин хлориду амонію, реактиви для біуретової реакції.

### **Вилучення міофібрилярних білків**

Для екстрагування міофібрилярних білків використовують розчини солей.

#### **Хід роботи**

Залишок м'язової тканини після водного екстрагування (виділення білків саркоплазми) змінюють з подвійною кількістю 10%-ного розчину хлориду амонію і збовтують протягом 20 хв. Екстракт фільтрують чи фугують і ще раз повторюють екстрагування хлоридом амонію, знову фільтрують чи центрифугують. Екстракти геднують, залишок м'язової тканини використовують для подальших експериментів.

Сольовий екстракт вміщує білки міозин і актоміозин. Наявність їх в екстракті визначають за допомогою біуретової реакції. Для підтвердження присутності цих білків у сольовому екстракті їх переводять у нерозчинну форму, для чого зменшують концентрацію солей, додаючи до екстракту 10-кратну кількість води. Через 10 хв. актин і актоміозин випадають в осад, оскільки вони не розчинні в слабких розчинах солей.

Реактиви. 10% -ний розчин хлориду амонію, реактиви для біуретової реакції.

### **Визначення білків сарколеми (stroma)**

В складі білків сарколеми і мембран взагалі основну частину становлять білки сполучної тканини — колаген, еластин, ретикулін, а також глікопротеїди — муцини, мукоїди (слизоподібні білки). Останні розчиняються в лугах. Колаген також частково розчиняється в лугах (набільша форма колагену), головна його частина переходить в розчин тільки при кип'ятінні. Розчин переходить в желатин, в який колаген перетворюється при кип'ятінні.

**Еластин і ретикулін** — дуже стійкі білки. Еластин не розчиняється у воді, в розчинах солей і навіть міцній сірчаній кислоті. При кип'ятінні не утворюється желатин. Те ж саме відноситься і до ретикуліну. Враховуючи сказане, можна провести якісне спостереження основних білків сарколеми (і сполучної тканини взагалі) — колагену та еластину, використовуючи залишок м'язової тканини після водної та сольової екстракцій, тобто після видалення білків саркоплазми і міофібрил. Для цього з залишку треба екстрагувати лугом, тобто видалити всі білки, що розчиняються в лузі (і частково колаген — до 15 %), після чого з

залишку перевести в розчин колаген у вигляді желатину кип'ятінням. В нерозчиненій частині залишається еластин.

#### Хід роботи

Залишок м'язової тканини після водної і сольової екстракції змішують з 50 мл 0,2%-ного їдкого натру (для повного видалення білків, що розчиняються в лузі), переносять в колбу або склянку, добре перемішують, знов центрифугують, відкидають фугат (рідину), а осад переносять у колбу, додають 50 мл дистильованої води і кип'ятять протягом 1 год. (постійний об'єм рідини підтримують додаванням невеликих порцій води). При кип'ятінні галоген перетворюється в желатин. Гарячу рідину фільтрують, в фільтраті визначають білок (желатин) за допомогою біуретової реакції. На фільтрі залишаються волокна та плівки еластину, які можна роздивитись під мікроскопом.

За допомогою біуретової реакції або інших методів можна визначити і кількість желатину (тобто колагену), але це буде невірним результатом, тому що частка колагену екстрагована лугом. Це враховується при кількісних дослідженнях.

#### **Кількісні дослідження речовин м'язової та сполучної тканин**

Для практичних цілей кількісні дослідження доцільно проводити по групах білків. Це пояснюється тим, що всі білки м'язів і тваринних тканин взагалі об'єднуються в групи за фізико-хімічними властивостями, зокрема розчинністю, які можна використовувати для виділення і вивчення цих груп.

#### **Білки саркоплазми**

До білків саркоплазми відносяться міоцени, глобулін X, міоглобін, міоглобулін. Всі вони, крім глобуліну X, добре розчиняються у воді. Глобулін X також переходить у водний екстракт, тому що вода екстрагує невелику кількість солей з м'язової тканини.

#### Хід роботи

З подрібненої м'язової тканини зважують 2 г, змішують з 20 мл дистильованої води і збовтують протягом 30 хв. Суміш фільтрують через марлю (для більш точного визначення білків застосовують центрифугування). Залишок екстрагують водою з послідовним фільтруванням (або центригуванням) два рази. Водні екстракти з'єднують. Залишок тканини можна використовувати для визначення білків міофібрил та саркоплазми, якщо це потрібно.

Водорозчинні білки в екстракті визначають шляхом їх осадження трихлороцтовою кислотою. Для цього екстракт м'язової тканини змішують з рівним об'ємом 10%-ного розчину трихлороцтової кислот. Білки випадають в осад, який відокремлюють за допомогою центрифуги. Осад переносять в колбу К'ельдаля, додають 10 крапель сірчаної кислоти, декілька крапель перекису водню і піддають мінералізації, тобто визначають білковий азот за К'ельдалем. Кількість азоту перемножують на 6,25, зважаючи, що вміст азоту в білках саркоплазми становить приблизно 16% ( $100:16=6,25$ ). Методику визначення азоту і розрахунки за К'ельдалем див. у відповідному розділі.

Реактиви. 10%-ий розчин трихлороцтової кислоти, решта реактивів – як при визначенні азоту за К'ельдалем.

### Білки міофібрил

Основну частину міофібрилярних білків становить міозин (35-40 % всіх білків м'язів). Вміст актину біля 15%. Кількість акто-міозину непостійна і залежить від стану м'язів. Ці білки близькі за фізико-хімічними властивостями, але не однакові, тому не можуть бути виділені повністю за однією методикою. Міозин, наприклад, переходить в розчин при обробці м'язової тканини 0,6 М розчином хлориду натрію або калію. При зменшенні концентрації солі він випадає в осад і таким шляхом може бути виділений в чистому вигляді.

Актин з м'язової тканини пов'язаний з ліпідами, тому для його виділення треба руйнувати ці зв'язки, наприклад, ацетоном. Після цього актин можна екстрагувати водою.

Актоміозин, як і міозин, розчиняється 0,6 М розчином хлориду калію, але тільки при тривалому екстрагуванні (до 24 год.). Таким чином міозин і актин екстрагуються в однакових умовах, але співвідношення їх в екстракті залежить від часу екстрагування.

Тропоміозин ще більш міцно пов'язаний з речовинами м'язів і для виділення його потрібний комплекс заходів для деградації м'язової тканини за допомогою етанолу та етилового ефіру. Таким чином, шляхом екстрагування сольовим розчином — 0,6 М КСІ можна виділити комплекс міофібрилярних білків, як це робиться при їх якісному дослідженні, але вміст і співвідношення їх в розчині не буде постійним, оскільки це залежить від часу та інших умов екстрагування. Крім того, загальний вміст білків в екстракті буде не повним, тобто не буде відповідати їх вмісту в тканині. Для повного

виділення всіх білків з тканини необхідно послідовно екстрагувати їх в різних умовах. Щодо окремих (індивідуальних) білків, то на цей час найбільш розробленою є методика виділення головного білка м'язів — міозину.

### **Кількісне визначення різних фракцій білків за азотом (за Міндліною і Пальмінім)**

В основі методу лежить послідовне вилучення білкових фракцій м'язової тканини і визначення азоту цих фракцій за К'ельдалем. Спочатку вилучають всі білки міофібрил і саркоплазми сольовим розчином, потім екстрагують білки строми лугом, а далі вилучають колаген у вигляді желатину кип'ятінням, після чого в досліджуваній тканині залишається еластин.

Одержаний сольовий розчин містить дві фракції білків — саркоплазматичні та фібрилярні. Їх осаджують додаванням фосфорної кислоти і кип'ятінням, після чого виділяють фільтруванням. У фільтраті залишаються екстрактивні речовини. У всіх одержаних фракціях визначають азот, за кількістю якого судять про вміст білка.

#### **Хід роботи**

У м'ясі визначають загальну кількість азоту, потім проводять роботу по одержанню фракцій білків. З 10 г подрібненої м'язової тканини вилучають білки саркоплазми та міофібрил. Для цього змішують тканину з 100 мл 1,2 М розчином хлористого калію, розділяють суміш за допомогою центрифуги, переводять фугат в мірну колбу, до осаду в центрифужний стакан знову додають 100 мл сольового розчину, центрифугують. Цю операцію повторюють всього 4 рази. Рідину кожен раз збирають в мірну колбу, доводять до мітки сольовим розчином. Частку сольового розчину мінералізують і визначають загальний азот сольового екстракту. В другій його частині визначають азот екстрактивних речовин (залишковий азот). Для цього екстракт підкислюють фосфорною кислотою до слабо кислої реакції за метиловим червоним і кип'ятять до повного осадження білків. Потім фільтрують і в фільтраті визначають залишковий азот. Різниця між кількістю азоту сольового екстракту і залишкового азоту дає величину водо- і солерозчинних білків.

Залишок м'яса у центрифужному стакані заливають 100 мл 0,25%-ного розчину їдкого натру, перемішують і залишають на 12 год. Після цього відокремлюють луговий екстракт

центрифуванням. До осаду знову додають 100 мл розчину лугу, перемішують 20 хв., центрифугують і т.д. Операцію повторюють всього 4 рази. Одержані фугати з'єднують, доводять до певного об'єму в мірній колбі, частину екстракту мінералізують і визначають азот лугового екстракту. Осад в центрифужному стакані заливають невеликою кількістю води, нейтралізують соляною кислотою за метиловим червоним, центрифугують з багатократним промиванням водою. Промивні води збирають, упарюють, визначають в них азот за К'ельдалем і приєднують його до азоту лугового екстракту.

У залишку м'яса вилучають колаген. Для цього змішують його з 50 мл дистильованої води і нагрівають в автоклаві 2 год. під тиском 1,2-1,5 атм. Гарячу суміш фільтрують в мірну колбу на 100 мл з промиванням гарячою водою, охолоджують і доводять до мітки водою. Частку фільтрату мінералізують і визначають азот колагену. Залишок з фільтром також мінералізують і визначають азот еластину. Коефіцієнти переводу азоту колагену і еластину дорівнюють відповідно 5,55 та 6,25.

Еластин, вилучений таким шляхом, містить домішки інших білків, що не екстраговані повністю лугом. Тому еластин ще раз вилучають за методикою, яка дозволяє видалити з м'язів всі білки, крім еластину.

З 10 г подрібненого м'яса три рази екстрагують речовини 10-кратним об'ємом 5%-ного хлористого натрію, відокремлюють рідину. Потім з залишку ще раз екстрагують на протязі 20 год. 10-кратним об'ємом 0,2%-ного їдкого натрію. Відокремлюють залишок, заливають його 100 мл 0,1%-ного їдкого натрію і кип'ятять 1 год., після чого відокремлюють осад еластину за допомогою центрифуги (декілька разів промивають водою) переносять на фільтр і ще промивають гарячою водою, потім волокна еластину поряд з фільтром піддають аналізу на вміст азоту за К'ельдалем. Якщо цю величину азоту відрахувати з азоту суміші еластину і домішок інших білків, одержимо азот домішок, який додаємо до азоту білків, що вилучені лугом.

Величину азоту кожної фракції виражають в % до загального азоту м'язів.

Свіже м'ясо високої якості містить білкового азоту: 88% загального, 12% екстрактивних речовин, 18-22% солерозчинних білків, 47-48% білків, що вилучаються лугом, 15-19% азоту ко-

лагену, 0,6—0,9% азоту еластину. Загальна кількість азоту в м'ясі біля 3%.

Кількість всіх білків, крім колагену, можна визначити, перемноживши кількість азоту на 6,25. Для визначення кількості колагену застосовують коефіцієнт 5,55.

Реактиви. 1,2 М хлористий калій, соляна кислота, метиловий червоний, 0,25%-ний розчин їдкого натрію, 5%-ний розчин хлористого натрію, 0,2%-ний розчин їдкого натрію, 0,1%-ний розчин їдкого натрію.

### Визначення міозину

Для визначення міозину використовують методику сольової екстракції. Але інші білки міофібрил, а саме актоміозин, також переходять в сольовий розчин. Різниця в тому, що міозин екстрагується швидко, а для вилучення актоміозину потрібен час. На цьому і базується метод визначення міозину: екстрагують міозин розчином солей, потім знижують концентрацію солей шляхом розбавлення водою, міозин випадає в осад, після чого його можна відокремлювати фільтруванням і визначають ваговим або іншими методами. Проте важко встановлювати межу між кінцем екстракції міозину і початком екстракції актоміозину. Тому при вилученні міозину у звичайних умовах в екстракті буде суміш білків міозину і актоміозину. Час екстрагування міозину приблизно 10 хв., в подальшому в екстракт переходить актоміозин, кількість якого в екстракті за часом зростає. Для повного переходу актоміозину в розчин потрібно 24 год. Актин, як відомо, також розчиняється в сольових розчинах, але для вилучення його спочатку необхідно зруйнувати зв'язки актину з колагеном та іншими речовинами м'язової тканини.

Таким чином, вилучення і визначення міозину та актоміозину можна здійснювати сольовим розчином послідовно, витримуючи відповідний час екстракції, але в тому та іншому випадках в розчин переходить їх суміш.

Для переважного вилучення міозину запропонована спеціальна методика проведення аналізів в умовах зниженої температури (Соловійов).

### Хід роботи

8 г подрібненої (при наявності льоду) м'язової тканини змішують з 25 мл 0,6 М охолодженого розчину хлористого калію в центрифужній пробірці, перемішують паличкою на протязі 10 хв.

(на льоду), потім центрифугують, зливають рідину (через фільтр) в мірну колбу на 50 мл. До залишку в центрифужну пробірку знов додають 25 мл охолодженого розчину хлористого калію, швидко перемішують і фільтрують. Рідину зливають в ту ж мірну колбу (через фільтр), витримують для підвищення температури і доводять до мітки розчином хлористого калію. Таким чином одержують сольовий розчин міозину, маючи на увазі, що актоміозин не встигає переходити в розчин в цих умовах.

З солевого екстракту осаджують міозин і визначають його кількість ваговим або іншими методами. Для цього 10 мл екстракту змішують з 10 мл 0,5 М ацетатного буферу (рН 5,2) і 80 мл дистильованої води у стакані на 200 мл. Міозин випадає в осад, який відокремлюють центрифугуванням (з промиванням водою 2 рази), кількісно переносять на зважений фільтр, висушують і визначають вагу міозину, тобто кількість його в 10 мл екстракту ( $m$  грамів).

Кількість міозину в м'язовій тканині становить:

$$M = \frac{m \cdot 50 \cdot 100}{8 \cdot 10} 62,5 \cdot m \%$$

Припустимо, що кількість міозину в 10 мл екстракту становить 0,5 г, тоді кількість міозину в м'язовій тканині:

$$M = 62,5 \cdot 0,5 = 31,25\%$$

Можна визначити кількість азоту міозину в екстракті за К'ельдалем і перерахувати його на кількість міозину, перемноживши на коефіцієнт 6,25. Визначення азоту за К'ельдалем дивись у відповідному розділі.

### Визначення вмісту глікогену в м'язах

**Глікоген** – енергетичний матеріал у м'язах. В процесі роботи м'язів він підлягає гліколізу (глікогенолізу), тобто анаеробному розкладу (молочнокислому бродінню), що супроводжується утворенням АТФ. Кількість глікогену в м'язах не постійна і залежить від фізичного стану тварин. Свіже м'ясо після забою тварини містить до 1% глікогену.

Глікоген в м'язах пов'язаний з міофібрилами, зокрема з білком міозином, а також з міогеном саркоплазми, тому значна частина глікогену знаходиться у важкорозчинній формі.

Для визначення глікогену білкову частину м'язових клітин руйнують за допомогою луку. Глікоген не руйнується лугом,



переходить в розчин. З розчину його осаджують спиртом, відокремлюють і піддають гідролізу (перетворюють в глюкозу) за допомогою кислоти. Потім визначають кількість глюкози і перераховують її на глікоген, поділяючи на коефіцієнт 1,11 (або перемножуючи на коефіцієнт 0,9).

#### Хід роботи

2 г подрібненої м'язової тканини вносять в центрифужну пробірку, додають 5 мл 60%-ного розчину їдкого калію і суміш кип'ятять на водяній бані 1-2 год. Після охолодження додають 5 мл води, потім 40 мл етилового спирту (96 %) і 5 мл 1%-ного сульфату натрію (який сприяє осадженню глікогену). Суміш витримують кілька годин до повного осадження глікогену, центрифугують при 3 000 об/хв, рідину видаляють піпеткою. Осад знову змішують з 15 мл спирту, центрифугують, видаляють спирт і ще два рази таким чином промивають осад спиртом. Потім додають до осаду ефір, витримують в ефірі 8-10 хв., зливають ефір і висушують осад в пробірці на водяній бані.

Одержаний осад глікогену піддають гідролізу. Для цього в пробірку додають 10 мл води, нейтралізують розчин додаванням 2-3 краплин соляної кислоти (при наявності лакмусу), додають 15 мл 2,5%-ної соляної кислоти і проводять гідроліз кип'ятінням на водяній бані протягом 2-3 год. Одержаний гідролізат кількісно переносять в мірну колбу на 200 мл, доводять до риски водою і використовують для аналізу глюкози. Кількість глюкози визначають за будь-яким відомим методом, наприклад йодометричним, за Бертраном, Офнером (див. відповідний розділ).

Реактиви. 60%-ний розчин їдкого калію, етанол (96%), 1%-ний розчин сульфату натрію, ефір, концентрована соляна кислота, 2,5%-ний розчин соляної кислоти, решта — реактиви для відповідних аналізів глюкози.

#### **Визначення глікогену печінки**

Методика базується на видаленні глікогену розчином трихлороцтової кислоти. Видалення глікогену повинно відбуватись швидко, тому що він в процесі аналізу підлягає ферментативному гідролізу. Можливість легкого роздрібнення печінки дозволяє виконання цього методу. В процесі видалення глікогену відбувається осадження та виділення білків.

### Хід роботи

Наважку печінки розтирають з рівним об'ємом трихлороцтової кислоти з піском, додають подвійний об'єм 5%-ного розчину кислоти, перемішують, відокремлюють рідину, залишок знову розтирають з рівним об'ємом 5%-ного розчину трихлороцтової кислоти і відокремлюють рідину через фільтр або іншим способом. Екстракти з'єднують, додають етанол до концентрації 50%. Осад видаляють центрифугуванням, промивають 50%-ним етанолом. Одержаний таким чином чистий глікоген висушують, зважують і розраховують вміст його в печінці за формулою:

$$M = \frac{m}{a} 100 \%$$

де  $m$  — кількість глікогену в наважці,  $a$  — наважка печінки.

### **Якісне визначення молочної кислоти**

Молочна кислота, або оксипропіонова  $\text{CH}_3\text{-CHOH-COOH}$  міститься в деяких рослинах, а також утворюється під час мікробіологічних процесів (молочнокисле бродіння).

У тварин у процесі м'язової роботи глікоген зазнає анаеробного гліколітичного розкладу з утворенням молочної кислоти (гліколіз). Під час невеликої роботи і після відпочинку вміст молочної кислоти (лактату) в м'язах невеликий (близько 30-40 мг%), а при посиленому навантаженні може досягати 400-500 мг%. Молочна кислота течією крові транспортується в печінку, де з неї при достатньому надходженні кисню знову синтезується глікоген. При автолізі м'язової тканини частина глікогену також підлягає глікогенолізу, що призводить до нагромадження молочної кислоти. При цьому зменшується  $pH$ .

Вміст молочної кислоти і значення  $pH$  є важливими показниками якості м'яса. Від цього залежить стійкість м'яса при зберіганні і ряд фізико-хімічних показників, які зумовлюють вологість, вологоутримання при тепловій обробці, кількість м'ясного соку. Зниження  $pH$  від 7,2 до 5,8 майже лінійно відповідає утворенню молочної кислоти.

### Хід роботи

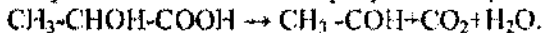
В пробірку наливають 3 мл 2%-ного розчину фенолу і додають 3-5 краплин 2%-ного розчину хлориду заліза до появи фіолетового забарвлення. Потім у пробірку доливають 3-5 мл досліджу-

ваного безбілкового водного екстракту м'язової тканини. У присутності молочної кислоти фіолетове забарвлення розчину переходить у жовте, жовто-зелене.

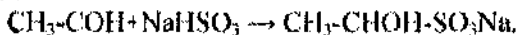
Реактиви: 2%-ний розчин фенолу, 2%-ний розчин хлориду заліза.

### **Кількісне визначення молочної кислоти**

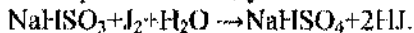
Метод базується на окисленні молочної кислоти в оцтовий альдегід перманганатом калію в присутності сірчаної кислоти:



Оцтовий альдегід відганяють і зв'язують бісульфітом натрію, за кількістю якого визначають кількість окисленої молочної кислоти:



Кількість зв'язаного бісульфіту визначають зворотним титруванням розчином йоду:



Оскільки йод у цій реакції бере участь як окислювач, кожний грам-еквівалент бісульфіту, а отже і молочної кислоти відповідає двом грам-еквівалентам йоду, тобто кожний мілілітр 0,1 N розчину йоду відповідає 4,5 мг молочної кислоти (молекулярна маса молочної кислоти — 90).

Для аналізів готують екстракт молочної кислоти з м'язової тканини, з якої видалені білки та вуглеводи.

### **Хід роботи**

2 г м'язової тканини швидко і при охолодженні подрібнюють, вміщують у мірну центрифужну пробірку, додають 5 мл охолодженого 10%-ного розчину трихлороцтової кислоти, перемішують, доводять водою до об'єму 10 мл. Для повного осадження білків пробірку залишають на кілька годин і центрифугують протягом 15 хв. Для подальших аналізів відбирають 5 мл центрифугату. Для осадження вуглеводів додають в цей фугат 1 мл 10%-ного розчину сульфату міді, 4 мл 20%-ного розчину гідроксиду кальцію, перемішують і через 30 хв. центрифугують. В центрифугаті визначають молочну кислоту. Для повноти видалення молочної кислоти до осаду додають воду і ще раз центрифугують. Фугати з'єднують.

Складають прилад для перегонки. Перегінну колбу місткістю 500 мл з'єднують з холодильником і прийнятною колбою. У горло перегінної колби вставляють дільничну ліжку на

250-500 мл. У перегінну колбу наливають центрифугат і додають 200-300 мл 0,5%-ного розчину сірчаної кислоти. У діляльну лійку наливають 0,02 N-ного розчину перманганату калію. У приймальну колбу 50 мл 0,2 N-ного розчину бісульфіту натрію. Занурюють алонж у рідину. Нагрівають рідину в перегінній колбі до кипіння і краплинами додають до неї з діляльної лійки перманганат. Перегонку продовжують до повного окислення молочної кислоти (до стійкого рожевого забарвлення рідини в перегінній колбі). Відгонку припиняють і в приймальній колбі відтитровують залишковий бісульфіт 0,1 N розчином йоду в присутності крохмалю. В окремій пробі встановлюють кількість розчину йоду, необхідну для нейтралізації 50 мл розчину бісульфіту. Кількість молочної кислоти в 1 г м'язової тканини визначають за формулою:

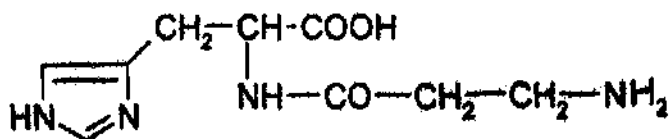
$$C = \frac{(A - B) \cdot 4,5 \cdot 10}{5} \text{ мг/г}$$

де  $A$  — об'єм 0,1 N розчину йоду, витраченого на нейтралізацію 50 мл 0,2 N розчину бісульфіту, мл;  $B$  — об'єм 0,1 N розчину йоду, витраченого на нейтралізацію непрореагованого бісульфіту в приймальній колбі, мл; 4,5 — коефіцієнт переведу 0,1 N розчину йоду в молочну кислоту, мг; 10 — об'єм екстракту м'язової тканини, мл; 5 — об'єм безбілкового екстракту, що брали для аналізу, мл.

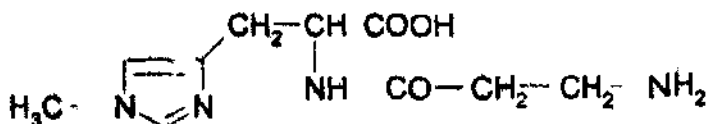
### Тема 5. ЕКСТРАКТИВНІ РЕЧОВИНИ М'ЯЗІВ

М'язова тканина містить багато азотових сполук, які виконують важливу функцію в організмі. Це фізіологічно активні речовини. Вони регулюють важливі процеси в організмі, їх називають екстрактивними речовинами, тому що вони легко переходять в розчин при екстракції м'язової тканини. Екстракційні речовини мають і велике технологічне значення як компоненти смаку і аромату м'яса. Сюди відносяться карнозин, аневрин, карнітин, холін, креатин, креатин-фосфат, АТФ, інозинова кислота, азотові основи, вільні амінокислоти, глутатіон тощо.

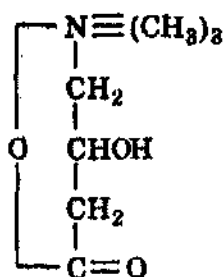
Карнозин стимулює дію харчотравних залоз, сприяє утворенню в м'язах АТФ, креатинфосфату. Складається з залишків амінокислот гістидину і  $\beta$ -аланіну:



Ансерин — це гомолог карнозину (метилкарнозину), виконує ті ж самі функції:

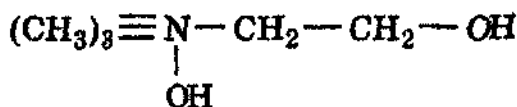


Карнітин — похідне  $\alpha$ -аміно- $p$ -оксимаєляної кислоти:



Фізіологічна роль ще не ясна.

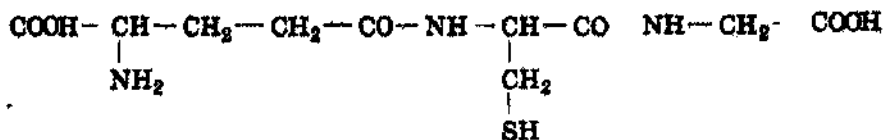
Холін (вітамін В4) — метил бований етаноламін:



Холін — попередник ацетилхоліну. Викликає перистальтику кишечника. В харчових продуктах виконує роль вітаміну В<sub>4</sub>, а також донора метильних груп в різних біохімічних процесах.

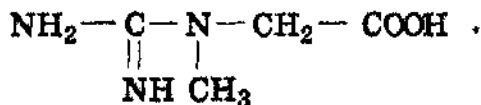
Глутатіон — трипептид, складається з залишків глутамінової кислоти, цистеїну і гліцину:

Виконує роль активатора ферментів, особливо

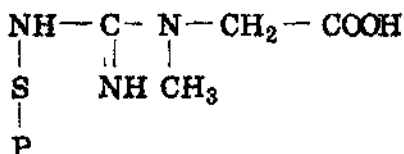


протеолітичних, обумовлює окисно-відновний потенціал м'язової клітини.

Креатин — метилгуанідиноцтова кислота:



Пов'язаний з обміном деяких амінокислот. Фосфорний ефір креатину — креатинфосфат — макроергічна сполука, є резервом фосфату при регенерації АТФ в м'язах:



В м'язах багато нуклеотидів, в першу чергу АТФ, продуктів її розкладу (інозинова кислота — ІМФ тощо). Всі вони впливають на якість м'яса.

### Дослідження екстрактивних речовин

У водному екстракті м'язової тканини міститься суміш речовин. Визначенню екстрактивних речовин заважає наявність у екстракті білків, які перед дослідженням треба відокремити шляхом осадження.

Одержання безбілкового екстракту м'язової тканини.

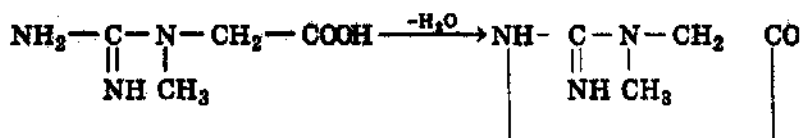
#### Хід роботи

40 мл водного екстракту м'язової тканини вміщують у колбу і кип'ятять при слабкокислій реакції (додають краплинами 10%-ний розчин оцтової кислоти). Осад відокремлюють фільтруванням. У фільтраті визначають креатинін і карнозин.

Реактиви: 10 % -ний розчин оцтової кислоти.

### Виявлення креатиніну

Креатинін утворюється з креатину при нагріванні підкисленого водного екстракту м'язової тканини під час осадження білків. При цьому креатин втрачає воду і перетворюється в креатинін, який дає кольорові реакції з нітропрусидом натрію і пікриновою кислотою:



### Хід роботи

У дві пробірки наливають по 3 мл водного безбілкового екстракту м'язової тканини. В одну із них додають 2-3 краплини свіжоприготованого 3%-ного нітропрусиду натрію і вміст пробірки підлучнюють в присутності лакмусу кількома краплями 10%-ного розчину гідроксиду натрію. У присутності креатиніну рідина забарвлюється в оранжево-червоний колір внаслідок пікрату креатиніну (червоного кольору).

### **Виявлення карнозину**

Метод базується на утворенні забарвленого продукту конденсації діазобензосульфокислоти з гістидиновим кільцем карнозину.

### Хід роботи

У пробірку вносять три краплини 0,5 %-ного розчину сульфанілової кислоти в 2%-ній соляній кислоті, три краплини 0,5%-ного розчину нітрату натрію і перемішують. До одержаного діазореактиву додають 1 мл досліджуваного безбілкового екстракту м'язової тканини і 0,5 мл 10%-ного розчину карбонату натрію до чіткої лужної реакції за лакмусом.

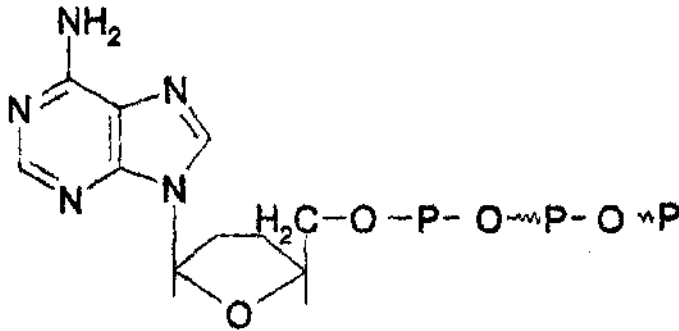
У присутності карнозину вміст пробірки забарвлюється в червоний колір.

*Реактиви для визначення креатину і карнозину*

1. 3%-ний розчин нітропрусиду натрію. 2. 10%-ний розчин гідроксиду натрію. 3. Оцтова кислота. 4. Насичений розчин пікринової кислоти. 5. 0,5%-ний розчин сульфанілової кислоти. 6. 0,5%-ний розчин нітрату натрію. 7. 10%-ний розчин карбонату натрію.

### Визначення аденозинтрифосфорної кислоти (за Є.Ф. Сопіним)

Аденозинтрифосфорна кислота (АТФ) є джерелом енергії, яка необхідна для синтезу багатьох речовин, скорочення м'язів тощо:



Вміст АТФ в організмі має бути постійним, але він знижується при м'язовій перевтомі, у процесі автолізу м'яса тощо, тому за кількістю АТФ можна судити про стан тварини і якість м'яса.

Про вміст АТФ в м'язах судять за кількістю неорганічного фосфору, який вивільняється при розкладі її в кислому середовищі під час кип'ятіння протягом 7—10 хв.

#### Хід роботи

1 г подрібненої м'язової тканини щойно забитої тварини розтирають в охолодженій ступці, додають 20 мл 6%-ного розчину трихлороцтової кислоти, ретельно перемішують і фільтрують. 2 мл фільтрату переносять в центрифужну пробірку, в яку попередньо наливають 2 мл магnezіальної суміші, і додають 1-2 краплини 1%-ного спиртового розчину фенолфталеїну. При цьому колір вмісту пробірки змінюється до рожевуватого.

Одночасно готують контрольний і експериментальний досліди, при яких замість трихлороцтового екстракту беруть по 2 мл трихлороцтової кислоти. Розчин залишають на 3-4 год. За цей час у трихлороцтовому фільтраті повністю руйнуються креатинфосфат і гексозофосфати. Неорганічний фосфор, який виділяється при цьому, осаджується магnezіальною сумішшю.

Пробірки центрифугують 20-25 хв. при 3 000 об/хв. Рідину відбирають піпеткою в сухі мірні пробірки і до центрифугату контрольного досліду додають 2 мл стандартного розчину



фосфору. Потім у всі пробірки вливають по 2 мл 2 N розчин соляної кислоти і кип'ячать протягом 10 хв. на водяній бані. Відбувається гідроліз АТФ і вивільнення фосфату. При охолодженні розчини нейтралізують в присутності фенолфталеїну 2 N-ним їдким калієм до блідо-рожевого кольору, додають по 1 мл розчину молібдату амонію з 0,5 мл 1%-ного розчину гідрохінону. Через 5 хв. в пробірки вносять по 2 мл розчину карбонату і сульфату натрію (краплинами).

Об'єм рідини в пробірках вирівнюють дистильованою водою і вміст перемішують. Через 15-20 хв. забарвлені розчини колориметрують на ФЕК з оранжевим або червоним фільтром.

Вміст фосфору АТФ в м'язовій обчислюють за формулою:

$$X = \frac{CE_1 \cdot 20 \cdot 100}{E \cdot 2} \quad \text{мг \%}$$

де  $C$  — маса фосфору в 1 мл стандартного розчину, мг;  $E_1$  — екстинція досліджуваного розчину; 20 — об'єм трихлороцтового екстракту м'язової тканини, мл; 100 — коефіцієнт переведення результатів в проценти;  $E$  — екстинція контрольного розчину; 2 — об'єм трихлороцтового фільтрату, взятий для кольорової реакції, мл.

Реактиви. 1. 6%-ний розчин трихлороцтової кислоти. 2. Магnezіальна суміш (10г  $MgCl_2$ , 14 г  $NH_4Cl$  і 25 мл  $NH_4OH$  розчиняють у 175 мл води). 3. 1%-ний спиртовий розчин фенолфталеїну. 4. 10%-ний розчин аміаку. 5. Стандартний розчин дигідрофосфату калію  $KH_2PO_4$  розчиняють в 1 л дистильованої води. До розчину додають кілька краплин хлороформу. Таким чином одержують вихідний розчин фосфору. Для виготовлення стандартного розчину фосфору, змішують вихідний розчин з дистильованою водою у співвідношенні 1:49. В стандартний розчин додають декілька краплин хлороформу. Стандартний розчин містить 0,2 мг фосфору в 1 мл. 6. 2 N розчин соляної кислоти. 7. 2 N розчин їдкого калію. 8. Розчин молібдату амонію. Готують два розчини: 1) 25 г молібдату амонію  $(NH_4)_6Mo_7O_{24} \cdot 4H_2O$  розчиняють в 300 мл дистильованої води; 2) 75 мл сірчаної кислоти розчиняють в 125 мл дистильованої води. Обидва розчини змішують. 9. Розчин карбонату і сульфату натрію. Готують два розчини: 1) безводний карбонат натрію  $Na_2CO_3$ , — 40 г, дистильована вода до 200 мл; 2) сульфат натрію  $Na_2SO_3$  — 7,5 г, дистильована вода до 50 мл. Обидва розчини змішують і фільтрують. 10. 1%-ний розчин гідрохінону.

## Тема 6. ПОКРИВНА ТКАНИНА ТА Ї ДЕРИВАТИ

*Покривна тканина* — це шкіра, яка виконує функцію захисту та виділення деяких продуктів обміну з організму. *Деривати* — все, що походить від шкіри: волосся, щетина, пір'я, пух, роги, копита. Шкіра складається з трьох шарів: зовнішнього — епідермісу, середнього — дерми і нижнього — підшкірної клітковини. Основна частина шкіри — дерма. Шкіра містить білки — склеропротейди, тобто колаген, еластин, ретикулін. 90% білків шкіри становить колаген. Є також мукоїди, альбуміни, глобуліни.

Основним білком дериватів (похідних) шкіри є кератин (кератини).

Колаген — вже відомий нам білок сполучної тканини. Епідермін, за своїми властивостями наближається до кератинів. Він покриває поверхневий шар епідермісу, здатний до надскорочення. Містить -S-S- групи, які руйнуються під дією сечовини та сульфідів.

*Кератин* — білок міцних утворень. Це найміцніший білок, що не розчиняється ні у воді, ні у будь-яких розчинниках, не засвоюється організмом. Його гідролізує лише фермент каротиназа, яку виробляє комаха — міль. Каротин містить 4-14 % цистеїну, тобто багато сірки, тому при горінні з кератину утворюються похідні сірководню — меркаптани, які мають дуже неприємний запах. Нерозчинність та стійкість кератинів взагалі обумовлені наявністю великої кількості дисульфідних зв'язків, які утворюють SH-групи цистеїну. В особливих умовах під дією кислот або лугу дисульфідні зв'язки (поряд з іншими зв'язками) руйнуються і утворюються пептиди. Таким чином одержують піноутворювачі, які застосовують в протипожежних рідинах.

Кератин — повноцінний білок. Існує технологія одержання кормового амінокислотного гідролізату з кератинової сировини.

З кератинів готують клей.

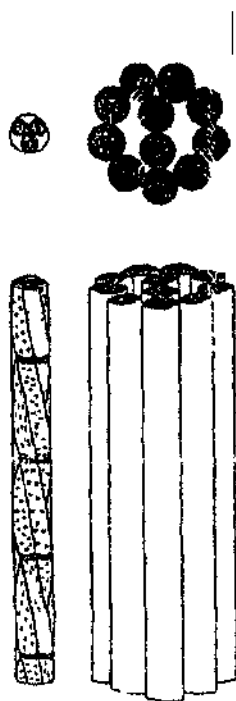


Рис. 5. Структура молекули кератину  $\alpha$ -протофібрила (три поліпептиди закручені в спіраль),  $\beta$ -міофібрила (11 протофібрил)

Міцність кератину обумовлюється особливістю структури. Його основою є мікрофібрила (рис. 5), яка складається з 11 протофібрил. Кожна протофібрила містить три закручених у спіраль нитки поліпептидів. Все це утворює дуже міцну структуру.

## Тема 7. ДОСЛІДЖЕННЯ КІСТКОВОЇ ТА ПОКРИВНОЇ ТКАНИНИ

У кістковій тканині міститься біля 45 % неорганічних сполук і тільки 30% білків. При обробці кісткової тканини слабкими кислотами залишається м'яка, еластична тканина — органічна частина — осейн. Майже вся кількість білків кістки є колаген. В осейні 25-28% білків, 3% мінеральних речовин і 0,2% жирів.

На виробництві для очистки колагену від інших білків осейн обробляють лугом. Цю операцію називають золкою. Для цього краще використовувати кальцієвий луг  $\text{Ca}(\text{OH})_2$ , тому що він завдяки слабкій розчинності не викликає деструкцію колагену. Внаслідок обробки лугом з осейну видаляються органічні речовини, які знаходяться поряд з галогеном. Важливо, що при цьому видаляються глікопротеїди — муцини і мукоїди, які знижують якість желатину.

В складі кісткової тканини є багато лимонної кислоти (до 7% всієї кількості її в організмі). Вона бере участь в процесі переносу кальцію.

Біля 99% всього кальцію знаходиться в скелеті.

Кісткова тканина утворюється як з власне сполучної тканини, так і з хрящів. Велике значення в процесі мінералізації колагену має фермент фосфатаза (лугова). Вона гідролізує фосфорорганічні сполуки, які поступають в кістку з кров'ю. В результаті відщеплюється фосфорна кислота і утворюються кальцієві фосфати.

### Визначення мінеральної частини кісткової тканини

#### Хід роботи.

Очищені від м'яких тканин, виварені і подрібнені кістки настоюють кілька днів у 5%-ному розчині соляної кислоти. Потім цю витяжку, яка містить мінеральні солі, зливають і визначають в ній наявність іонів кальцію, заліза, магнію, фосфорної кислоти за загальноприйнятими методами.

Наважку подрібненої кістки обережно нагрівають у тиглі до обвуглювання, потім прожарюють до утворення золи. Ваговим методом визначають вміст зольних елементів в кістці.

Реактиви: 5%-ний розчин соляної кислоти.

### Дослідження органічної частини кісткової тканини

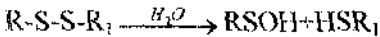
Після сольової екстракції частину подрібненої кістки, яка складається переважно з колагену, промивають довгий час водою для видалення соляної кислоти, потім кип'яять у воді протягом 1 год. При цьому колаген переходить в желатин, який виявляють якісно або визначають кількісно за біуретовою реакцією.

### Дослідження специфічних білків покривної тканини

Специфічними білками шкіри є епідермін і кератин. Деривати шкіри складаються головним чином з кератинів.

Епідермін за своїми властивостями наближається до кератинів. Епідермін розчиняється в 6 М сечовині і частково в розчинах сульфідів.

Кератин не розчиняється у воді, в розчинах солей, спирті, ефірі. Тільки під дією лугу відбувається розрив дисульфідних зв'язків з утворенням сульфенової кислоти та похідного сірководню:



Сульфенова кислота підлягає подальшому розкладу. Для розчинення кератинів застосовують детергенти. Лужний гідроліз кератинової сировини використовують для одержання різних продуктів: піноутворювачів, клею, амінокислотного гідролізату, а також чистих амінокислот — глутамінової кислоти, цистеїну, тирозину та ін.

### Гідроліз кератинів

#### Хід роботи

Рогові стружки або волосся (0,1-0,2 г) заливають 5 мл 10%-ного розчину їдкого натрію в пробірці і нагрівають на вогні або водяній бані. Через деякий час встановлюють наявність сірки за допомогою смужки фільтрувального паперу, змоченого в 0,5%-ному розчині ацетату свинцю. Якщо папір набуває чорного кольору, в пробірці відбувся гідроліз кератину і звільнення сірки.

Реактиви: 1. 10%-ний розчин NaOH. 2. 0,5%-ний розчин ацетату свинцю.

## Тема 8. ЖИРОВА ТКАНИНА

Жирова тканина міститься в рихлій сполучній тканині. Клітини рихлої тканини містять в середині краплини жиру. Найбільша кількість жирової тканини зосереджена під шкірою. Жирова тканина виконує енергетичну та захисну функції. Жирова тканина використовується як сировина для виготовлення шіпику, ковбас і для одержання харчового та технічного жиру.

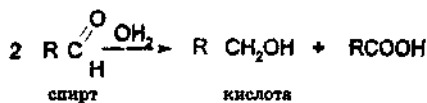
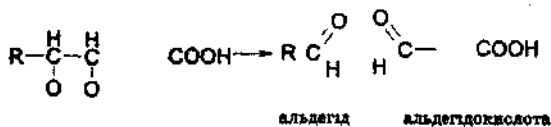
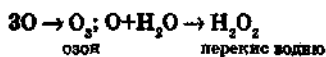
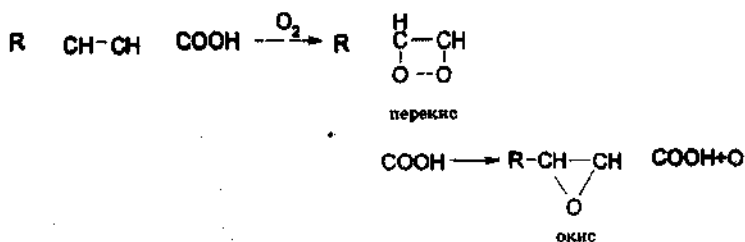
Жирова тканина складається в основному з жиру (87-97%), невеликої кількості білків (0,3-1,8%) та води (3-11%).

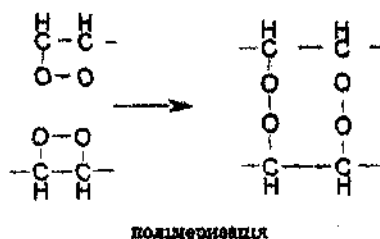
Жир являє собою тригліцериди, в складі яких є міристинова, пальмітинова, стеаринова і ненасичені — олеїнова, лінолева, арахідонова кислоти. Жирова тканина містить деяку кількість жиророзчинних вітамінів і каротиноїдів, які забарвлюють її в жовтий колір.

### Автолітичні процеси у жировій тканині

В живому організмі спостерігається рівновага між процесами синтезу і розкладу (автолізу) органічних речовин. З припиненням життєдіяльності в організмі відбуваються лише автолітичні процеси, тобто гідроліз та подальший розклад речовин. Розклад вуглеводів та білків використовується в технології м'яса як позитивні процеси, що супроводжуються нагромадженням корисних продуктів для якості м'яса. Більш детально це розглядається в спеціальному розділі. Щодо жирів, то процеси їх розкладу — це псування жиру і м'ясних продуктів взагалі. З припиненням життєдіяльності організму тканинні ліпази починають діяти тільки в напрямі гідролізу жиру, внаслідок чого нагромаджуються вільні жирні кислоти. При підвищенні температури в присутності вологи відбувається розклад жиру. Утворюється багато вільних жирних кислот, особливо низькомолекулярних —

капронової, масляної, які різко знижують смакову якість продукту. В присутності вільних жирних кислот знижується температура димоутворення. Такий жир непридатний для кулінарних цілей. Крім цього, гідролізований жир, а саме ненасичені жирні кислоти підлягають окисленню киснем, який завжди присутній і легко приєднується до подвійних зв'язків. Внаслідок цього утворюються різноманітні шкідливі продукти — перекиси, альдегіди, кетони, альдегідокислоти, продукти полімеризації тощо. Відбувається прогрівання жиру:





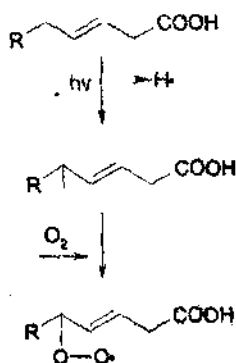
Відомо також кетонне ("пахуче") прогіркання жиру, яке може відбуватись шляхом хімічного або ферментативного окислення:



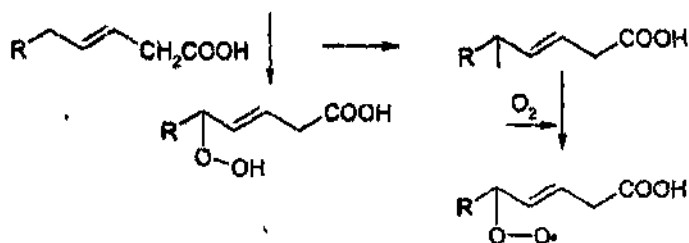
Внаслідок цього з жирних кислот утворюються відповідні кетони, які надають продукту своєрідний запах псування.

Існує теорія академіка М.М. Семенова, згідно з якою в присутності світла (під впливом енергії світлових квантів) з участю кисню в жирі розгортаються ланцюжні вільнорадикальні процеси, внаслідок яких нагромаджуються продукти окислення жирів. Проміжними продуктами вільнорадикальних процесів є перекиси, гідроперекиси, які перетворюються у вторинні продукти — альдегіди, кетони, кислоти тощо.

Ланцюг вільнорадикального процесу можна відобразити таким чином:







Під впливом кванту світла від ненасиченої жирної кислоти відщеплюється радикал водню і утворюється радикал жирної кислоти. Він приєднує кисень, утворюється перекисний радикал кислоти. Цей радикал відщеплює водень від наступної молекули жирної кислоти, утворюється гідроперекис цієї жирної кислоти і вільний радикал другої кислоти, який продовжує ланцюгову реакцію. Гідроперекиси, що утворюються в ланцюговій реакції, підлягають подальшому перетворенню в різні вторинні продукти прогіркання жиру.

Радикал водню, що утворюється на початку реакції, може передати кисень з утворенням перекису водню, як це спостерігається при звичайному псуванні жирів за відсутності світла.

## Тема 9. ДОСЛІДЖЕННЯ ЖИРОВОЇ ТКАНИНИ

Жирова тканина є різновидністю сполучної тканини, її вміст у тварин коливається залежно від умов їх отримання. В середньому вона становить: у великої рогатої худоби 1,5-7,7%, свиней — 2,5-9,5%. (внутрішній жир), 10-30% (шпик), курей — 9-13%, гусей — 22-33%. Найбільша кількість жиру знаходиться в сполучній тканині черевної порожнини, під шкірою, між м'язовими волокнами.

Дослідження жиру проводять для з'ясування змін, які відбуваються внаслідок гідролітичних процесів після припинення життя тварини і псування при зберіганні. Стан жирів характеризують умовними показниками (константами), методи вивчення яких наведені в розділі про жири.

Велике значення в технології м'яса приділяють наявності в жирі вільних жирних кислот (кислотне число). Вони утворюються

під впливом гідролітичних ферментів тканини і ферментів мікробного походження (ліпаз). У топлених жирах цього майже не спостерігається внаслідок температурної інактивації ферментів. Але є і інші причини розкладу жирів — дія кислот, лугів, присутність неорганічних каталізаторів, вологи. Кислотне число свіжої жирової тканини невелике — 0,05-0,2, але з часом воно зростає. Кислотне число є критерієм для сортування жирів: вищий сорт — не більше 1,2, перший сорт — 2,2. В технічному жирі кислотне число становить в межах 10-25.

В найбільшій мірі при зберіганні підлягають псуванню ненасичені жири. В них, крім гідролітичних процесів, відбувається згірнення, тобто окислення киснем та вільнорадикальні процеси. Майже всі жири піддаються окисному псуванню, тому що всі вони в різній кількості містять ненасичені жирні кислоти. Є дані, що і насичені жирні кислоти, хоч і повільно, але підлягають окисленню.

Показником окисного псування звичайно є наявність перекисів, тобто перекисне число. У свіжій жировій тканини перекисів немає. Жир, який має перекисне число 0,03 (% йоду), вважають свіжим, 0,06-0,1 — сумнівної свіжості, більш 0,1 — не здатний до зберігання.

Методики визначення всіх констант жирів наведені в загальній частині посібника. Вони не залежать від походження матеріалів.

#### Контрольні питання для перевірки знань до теми 9.

1. З якою метою проводять дослідження жирів?
2. Що характеризує окислювальне псування жиру?
3. Які процеси відбуваються у жирах під час псування?
4. Охарактеризуйте кислотне число жиру.
5. Який % становить жирова тканина у ВРХ, свиней, гусей?
6. Який % становить жирова тканина у свиней внутрішній жир ... , шпик ..., та курей?

## Тема 10. КРОВ

Кров виконує ряд функцій в організмі: поживну, дихальну, захисну, регуляторну. Вона підтримує водну рівновагу в тканинах, регулює температуру тіла тощо.

Кров складається з рідкої частини — плазми і формених елементів — еритроцитів, лейкоцитів, тромбоцитів. Формені елементи становлять до 45 % об'єму крові, плазма — до 55 %. Плазма крові, з якої вилучено білок фібриноген, носить назву сироватки крові.

Кров має слаболужну реакцію. До складу крові входять білки, небілкові азотисті сполуки, вуглеводи, ліпіди, мінеральні солі, вода.

Кількість крові по відношенню до маси тіла коливається у хребетних тварин — від 1,7 до 10%, у людини — близько 7%.

Кров забитих тварин є сировиною для одержання деяких видів продуктів харчування (ковбас, сальтисонів, консервів). З неї готують кровозамінники, лікувальні та лікувально-поживні препарати (фібринні плівки, що застосовуються при опіках та виразках, лікувальне активоване вугілля, гематоген, імунні сироватки, тромбін тощо).

Велике негативне значення при переробці крові має її здатність до зсідання. На виробництві необхідно запобігати зсідання. Для цього застосовують методи стабілізації крові. Практичне значення має також вилучення складових частин крові — формених елементів, фібрину. При переробці крові необхідно зберігати еритроцити, тобто не допустити їх розриву і виходу гемоглобіну в плазму (гемолізу). Для цього потрібно знати умови, при яких відбувається гемоліз.

### ДОСЛІДЖЕННЯ КРОВІ

#### Одержання стабілізованої крові

У процесі зсідання (коагуляції) крові бере участь ряд речовин.

**Зсідання** — це перетворення розчинного фібриногену в нерозчинний фібрин. Це відбувається в результаті послідовних ферментативних реакцій у присутності іонів кальцію. Для запобігання процесу зсідання крові досить зв'язати іони кальцію або інактивувати якийсь із ферментів. Для припинення процесу зсідання крові достатньо зв'язати 50% кальцію. Речовини, що перешкоджають зсіданню крові, називаються стабілізаторами або антикоагулянтами. Є хімічні і біологічні антикоагулянти

(стабілізатори). Хімічні стабілізатори — це солі щавлевої кислоти (оксалати) лимонної (цитрати), сірчаної (сульфати). Вони зв'язують іони кальцію і перешкоджають утворенню тромбіну. Інші хімічні речовини діють на ферменти. Наприклад, солі магнію пригнічують діяльність тромбокінази, хлорид натрію гальмує дію тромбіну.

Біологічні (фізіологічні) стабілізатори діють по-різному: одні знижують активність ферментів (наприклад, гепарин пригнічує дію тромбіну), інші гальмують синтез компонентів зсідання крові (наприклад, дикумарин заважає синтезу фібриногену).

#### Хід роботи

У колбу на 500 мл наливають свіжу кров і додають до неї 10%-ний розчин оксалату амонію з розрахунку 1 мл на 100 мл крові. Вміст колби добре перемішують. При цьому кальцій випадає в осад у вигляді оксалату. Кров втрачає здатність до зсідання. Таким чином одержана стабілізована кров.

Стабілізацію краще проводити на м'ясокомбінаті.

Реактиви. 10%-ний розчин щавлевокислого амонію.

#### *1. Одержання плазми крові*

*Плазма* — це рідка частина крові, звільнена від формених елементів. Плазму крові одержують центрифугуванням чи відстоюванням стабілізованої крові.

#### Хід роботи

Стабілізовану кров наливають у центрифужні пробірки, центрифугують, потім відділяють рідину від осаду декантуванням.

#### *Зсідання крові*

Процес зсідання можна спостерігати на свіжій і стабілізованій крові. Зсідання крові пов'язано з перетворенням розчинного білка плазми фібриногену в нерозчинний білок фібрин. При цьому від молекули фібриногену за допомогою ферменту відщеплюється чотири пептиди і утворюється фібрин, котрий полімеризується у вигляді довгих тонких ниток. Нитки фібрину утворюють сітку, в якій затримуються клітини крові.

Механізм зсідання крові складний. У цьому процесі беруть участь різні речовини, що містяться в плазмі і взаємодіють в результаті трьох основних реакцій, кожна з яких каталізується ферментом, що утворюється внаслідок реакції.

Для зсідання стабілізованої крові її необхідно дестабілізувати, тобто відновити здатність до зсідання, що здійснюється за допомогою хлориду кальцію.

#### Хід роботи

*Перший варіант (виконується на м'ясокомбінаті).*

Свіжу кров наливають у колбу, при перемішуванні скляною паличкою спостерігається процес зсідання.

*Другий варіант (виконується в лабораторії).*

У дві пробірки наливають по 3 мл стабілізованої крові, в одну з них додають 0,3 мл 3,0%-ного розчину хлориду кальцію, ставлять пробірки у термостат, витримують при 37-38 °С протягом 30 хв. Потім спостерігають випадання осаду крові в пробірці, до якої доданий хлорид кальцію.

Реактиви. 3,0%-ний розчин хлориду кальцію.

### **Одержання дефібринованої крові**

*Дефібринованою* називається кров, з якої вилучений білок фібрин. Якщо із крові, що зсілась, вилучити згусток фібрину, одержується дефібринована кров.

*Хід роботи (виконується на м'ясокомбінаті)*

Свіжу кров наливають у склянку і обережно перемішують скляною паличкою, намагаючись не зруйнувати еритроцити. Фібрин, що утворюється, намотується на паличку. Для повного його вилучення кров, що зсілась, фільтрують через 2-3 шари марлі. Одержаний фільтрат — це дефібринована кров. Операцію фільтрування можна провести в лабораторії, а дефібриновану кров використовувати для інших робіт.

### **Одержання сироватки крові**

*Сироватка крові* — це рідина, одержана в результаті вилучення з крові фібрину і формених елементів (еритроцитів, лейкоцитів, тромбоцитів). Для швидкого одержання сироватки досить відцентрифугувати дефібриновану кров, проте для повного вилучення фібрину формених елементів потрібно проводити дефібринування більш старанно (витримати свіжу кров у термостаті, потім на холоді, після чого на центрифuzі вилучити відразу фібрин і формені елементи).

*Хід роботи*

Дефібриновану кров розлити й центрифугувати при 3 000 об/хв протягом 10 хв. Потім декантувати надосадну рідину, тобто сироватку.

### **Гемоліз крові**

Гемоглобін знаходиться в еритроцитах, якщо попадає в плазму, він забарвлює її у червоний колір. Перехід гемоглобіну в плазму називається гемолізом. Якщо гемоліз відбувається внаслідок руйнування оболонки еритроцитів (строми) — це буде строматоліт,

коли гемоглобін проникає в плазму через оболонку при збільшенні її проникності, відбувається гемоглобіноліз.

Причиною гемолізу можуть бути різні фактори, зокрема, дія органічних речовин — розчинників, наприклад спирту, поверхнево-активних сполук — мило, жовчні кислоти, механічний вплив, заморожування. Гемоліз відбувається також в результаті розбавлення крові водою. Оболонка еритроцитів напівпроникна, вона пропускає воду, але не пропускає катіони. При добавленні води концентрація солей у плазмі зменшується. Внаслідок великої різниці осмотичного тиску в середині і навколо еритроциту вода із плазми проникає всередину еритроциту. При цьому еритроцити набрякають і лопаються, а гемоглобін переходить у плазму. Через темно-червоне забарвлення гемолізована кров називається «лаковою».

#### Хід роботи

У чотири пробірки наливають по 1 мл дефібрированої крові і додають: в одну — 4 мл дистильованої води та 1 мл ефіру, у другу — 5 мл дистильованої води, у третю — 5 мл насиченого розчину хлориду натрію, четверту пробірку залишають без змін. Пробірки струшують і спостерігають забарвлення крові внаслідок гемолізу крові в різних умовах.

Реактиви: 1. Вода дистильована. 2. Насичений розчин хлориду натрію. 3. Ефір.

#### **Одержання кристалів гемоглобіну**

Гемоглобін виділяють шляхом гемолізу, який викликають додаванням дистильованої води, обробкою ефіром, толуолом.

В гемолізованій крові осаджують білки сульфатом амонію, потім відокремлюють осад білків, залишають рідину на добу в стакані з сумішшю льоду і хлористого натрію. В рідині з'являються кристали гемоглобіну, які можна спостерігати під мікроскопом. Процес кристалізації можна прискорити збільшенням еритроцитів і додаванням етанолу.

#### Хід роботи

2-3 мл стабілізованої крові центрифугують 5-6 хв. при 3 000 об/хв., після чого відокремлюють піпеткою плазму. Із дна пробірки переносять 0,5 мл еритроцитів в другу центрифужну пробірку, додають 1,5 мл дистильованої води, перемішують і додають 10 краплин етилового спирту. Суміш ставлять у стакан, заповнений льодом і хлористим натрієм, витримують біля години і спостерігають кристали гемоглобіну під мікроскопом.

### Розділення білків плазми крові

Основну частину білків плазми крові становлять фібриноген, сироватковий альбумін, сироватковий глобулін. При зсіданні крові утворюється фібрин. Розділення цих білків засноване на різній здатності їх до розчину в воді, сольових розчинах різної концентрації.

#### Хід роботи

Змішують 10 мл оксалатної плазми крові і 10 мл насиченого розчину хлористого натрію. В осад випадає фібриноген, його відокремлюють фільтруванням, фільтрат насичують сухим хлористим натрієм. В осад випадає сироватковий глобулін, який відокремлюють через фільтр. Фільтрат нагрівають і спостерігають осадження сироваткового альбуміну. Те ж саме відбувається без нагрівання — додаванням краплини оцтової кислоти.

Реактиви: 1. Насичений розчин хлористого натрію. 2. Кристалічний хлористий натрій. 3. Оцтова кислота. 4. Оксалатна плазма крові.

#### **Контрольні питання для перевірки знань до теми 10.**

2. Що таке зсідання крові?
3. Що таке строматоліз?
4. Хід роботи визначення де фібринової крові.
5. Що таке плазма?
6. Що таке гемоглобіноліз?
7. Назвати основні хімічні стабілізатори.
8. Де використовують кров забитих тварин?
9. Механізм зсідання крові.
10. Назвіть основні причини гемолізу.
11. Назвати основні біологічні стабілізатори.
12. Описати хід роботи по розділенню білків плазми крові.
13. Сироватка крові це ... .
14. Яким методом одержують кристали гемоглобіну?
15. Охарактеризувати хід роботи по визначенню процесу зсідання крові (I та II варіант).
16. Дефібринована кров це ... ?
17. Опишіть склад крові.
18. Суть розділення білків плазми крові.
19. Хід роботи визначення гемолізу крові.

## ЛІТЕРАТУРА

1. Анисимов А.А., Леонтьева и др. Основы биохимии. — М.: Высшая школа, 1986. — 551 с.
2. Биохимия: Практикум / Под ред. Кучеренко Н.Е., Бабенюк Ю.Д., Васильева А.Н. — К.: Вища школа, 1988. — 230 с.
3. Добрынина В.И., Свешникова Е.Л. Руководство к практическим занятиям по биологической химии. — М.: Медицина, 1950. — 290 с.
4. Дроздов Н.С. Практическое руководство по биохимии мяса. — М.: Пищепромиздат, 1950. — 289 с.
5. Ивченко Г.М., Кушманова О.Д. Руководство к практическим занятиям по биологической химии. — М.: Медицина, 1966. — 220 с.
6. Кононский А.Й. Биохимия животных. — К.: Вища школа, /1984. — 414 с.
7. Кушманова О.Д. Руководство к практическим занятиям по биологической химии. — М.: Медицина, 1974. — 280 с.
8. Месяц А.Й. Биохимия мяса, мясопродуктов и птицепродуктов. — М.: Легкая и пищевая промышленность, 1984. — 280 с.
9. Остапеч М.Л., Романська Н.М. Практикум з біохімії. — К.: Вища школа, 1974. — 251 с.
10. Павловский П.Е., Пальмин В.В. Биохимия мяса. — М.: Пищевая промышленность, 1975. — 244 с.
11. Петров К.П. Практикум по биохимии. — К.: Вища школа, 1974. — 305 с.
12. Филиппович Ю.Б. Практикум по общей биохимии. — М.: Просвещение, 1975. — 318 с.



## Зміст

<b>Вступ</b>	3
<b>Тема 1. Хімічні властивості м'яса</b>	5
<b>Тема 2. М'язова тканина</b>	10
<b>Тема 3. Сполучна тканина</b>	17
<b>Тема 4. Дослідження м'язової та сполучної тканин</b>	23
<b>Тема 5. Екстрактивні речовини м'язів</b>	36
<b>Тема 6. Покривна тканина та її деривати</b>	42
<b>Тема 7. Дослідження кісткової та покривної тканини</b>	44
<b>Тема 8. Жирова тканина</b>	46
<b>Тема 9. Дослідження жирової тканини</b>	49
<b>Тема 10. Кров</b>	51
<b>Література</b>	57

Львівська національна академія ветеринарної медицини  
імені С.З. Гжицького

**Кравців Р.Й., Паска М.З. Ощипок І.М.** Навчальний посібник із дисципліни „Фізико-хімічні та біохімічні основи технології м'ясних продуктів” для студентів денної та заочної форм навчання за спеціальністю 7.091707 „Технологія зберігання, консервування та переробки м'яса”. – Львів, 2006.– 58 с.

**Колектив упорядників:**  
Кравців Роман Йосипович  
Паска Марія Зіновіївна  
Ощипок Ігор Миколайович

**Навчально-методичне видання**  
Друкується без оголошень

Підписано до друку. Формат 60×84/16. Друк офсетний.  
Папір №2. Умов. др. арк. 4.1. Тираж 100 примірників.  
Віддруковано на різнографі в лабораторії комп'ютерних  
технологій ЛНАВМ ім. С.З. Гжицького  
м. Львів, вул. Пекарська, 50  
тел. 78-36-34

Львівська національна академія ветеринарної медицини  
імені С.З. Гжицького

**Кравців Р.Й., Паска М.З. Ощипок І.М.** Навчальний посібник із дисципліни „Фізико-хімічні та біохімічні основи технології м'ясних продуктів” для студентів денної та заочної форм навчання за спеціальністю 7.091707 „Технологія зберігання, консервування та переробки м'яса”. – Львів, 2006.– 58 с.

**Колектив упорядників:**  
Кравців Роман Йосипович  
Паска Марія Зіновіївна  
Ощипок Ігор Миколайович

**Навчально-методичне видання**  
Друкується без оголошень

Підписано до друку. Формат 60×84/16. Друк офсетний.  
Папір №2. Умов. др. арк. 4.1. Тираж 100 примірників.  
Віддруковано на різнографі в лабораторії комп'ютерних  
технологій ЛНАВМ ім. С.З. Гжицького  
м. Львів, вул. Пекарська, 50  
тел. 78-36-34