

ИДЕНТИФИКАЦИЯ БЕЛКОВЫХ ДОБАВОК В КОЛБАСНЫХ ИЗДЕЛИЯХ

Егорова З.Е., Черник Л., Головачева В.Н.

*Белорусский государственный технологический университет,
Белорусский научно-исследовательский институт эпидемиологии и
микробиологии*

Анализ структуры белкового питания населения Республики Беларусь за последние 5 лет выявил динамику ее существенного ухудшения [1]. Неуклонно нарастающий дефицит потребляемого населением белка связан с недостаточностью в пищевых рационах белков животного происхождения, особенно мясных. При этом количественный дефицит белков питания усугубляется его качественной неполноценностью.

Одним из источников мясных белков являются колбасные изделия, в частности вареные колбасы, как наиболее часто употребляемый и доступный вид мясопродуктов. Поэтому именно эти изделия наиболее часто подвергаются фальсификации путем замены мясного белка белками растительного происхождения или малоценными животными белками.

Использование белковых добавок предусмотрено при производстве колбасных изделий, но только тех, которые разрешены Минздравом Республики Беларусь, и в количествах, строго определенных нормативной документацией. Поэтому целесообразность любого вида добавок должна определяться их влиянием не только на химический состав продукта, но и на его биологическую ценность.

Точно ответить на вопрос, за счет какого компонента было повышено содержание белков, не представляется возможным с помощью обычных химических методов исследования из-за многокомпонентности колбасных изделий.

Поэтому разработка новых и современных методов идентификации белков в пищевых продуктах является весьма перспективной и актуальной.

Целью данной работы было исследование возможности использования электрофореза для идентификации белковых добавок в вареных колбасах.

Методика исследования

Объектами исследований служили мясо свинины и говядины, соевые изоляты производства фирмы «АДМ» (США), казеинат натрия, выработанный на опытном участке ГП «БелНИКТИММП», и колбаса вареная 1 сорта, изготовленная Слуцким мясокомбинатом по СТБ 126-96 [2].

Экспериментальная часть работы была выполнена на кафедре физико-химических методов сертификации продукции и в лаборатории вирусных энтеральных гепатитов и диарейных заболеваний БелНИИ эпидемиологии и микробиологии.

Подготовку образцов для проведения анализа осуществляли следующим образом. Образцы мяса говядины и свинины, а также колбасы вареной дважды измельчали на бытовой мясорубке и замораживали при $T = -4^{\circ}\text{C}$. Замороженные пробы растирали в фарфоровой ступке пестиком.

К 1 г полученных гомогенатов добавляли 10 см^3 ацетона, тщательно перемешивали и центрифугировали в течение 6 мин при 5000 об/мин. Надосадочную жидкость сливали, а к остатку прибавляли 10 см^3 ацетона, тщательно перемешивали, центрифугировали как указано выше и сливали надосадочную жидкость. Полученный обезжиренный осадок высушивали при комнатной температуре в течение 48 ч. К сухому остатку приливали 3 мл 3 %-ного раствора Тритона X100 и гомогенизировали полученную смесь и выдерживали 20 мин при 40°C . Смесь центрифугировали в течение 30 мин при 5000 об/мин. Супернатант переносили в чистые сухие пробирки и использовали для анализа.

Кроме вышеуказанного метода пробоподготовки из образцов колбасы вареной готовили пробы двумя другими методами, а именно: проводили экстракцию гомогенатов Тритоном X 100 или раствором мочевины без предварительного обезжиривания ацетоном.

К 0,1 г соевого изолята добавляли 3 мл 3 %-ного раствора Тритона X100, смеси гомогенизировали, нагревали до 40 °С и выдерживали при этой температуре 20 мин, затем центрифугировали в течение 30 мин при 5000 об/мин. Полученный супернатант использовали для анализа.

0,5 г казеината натрия растворяли в 2 мл дистиллированной воды, нагревали до температуры 35-40 °С и добавляли в раствор 0,5 г мочевины.

Общее количество белка в подготовленных пробах определяли спектрофотометрически и рассчитывали по формуле Калькара [3]:

$$X=1,45A_{280}-0,74A_{260} \quad (1)$$

где 1,45 - поправочный коэффициент для ароматических аминокислот, мг/мл;

A_{280} - оптическая плотность раствора при 280 нм;

0,74 - поправочный коэффициент для нуклеиновых кислот, мг/мл;

A_{260} - оптическая плотность раствора при 260 нм.

Для проведения электрофоретического разделения белков использовали прибор Mini-PROTEAN||cell фирмы Bio-Rad Laboratories.

Исследуемые пробы продуктов растворяли в буферном растворе для приготовления образцов в концентрации 1-2 мг/мл и нагревали 5-10 мин на кипящей водяной бане. После охлаждения растворов белков до комнатной температуры их наносили в объеме до 20 мкл на гелевую пластину и осторожно наслаивали электродный буфер. После нанесения образцов прибор подключали к источнику тока и проводили электрофорез. Напряженность электрического поля в начале эксперимента была равна 6-7 В/см, после проникновения образцов в разделительный гель напряженность увеличили до 15-20 В/см.

После того, как маркерный краситель достигал нижней границы пластины, источник питания отключали, а гелевую пластину окрашивали вышеперечисленными растворами.

Идентификацию проводили по белковому спектру, характерному для каждого вида белоксодержащих продуктов, путем определения относительной электрофоретической подвижности (ОЭП) белков. ОЭП рассчитывали по отношению к пробегу индикатора бромфенолового синего, принимаемого за единицу, по формуле:

$$\text{ОЭП} = l/l_n \quad (4)$$

где l - расстояние от дна лунки-колодца, в которую вносили образец белка, до середины определяемой белковой зоны, мм;

l_n - расстояние от дна лунки-колодца до середины зоны индикатора бромфенолового синего, мм.

Результаты исследований и их обсуждений

Результаты спектрофотометрического определения белка в подготовленных образцах представлены в табл.1.

Как видно из данных табл. 1, экстракты белковых веществ содержали значительное количество белка, что свидетельствовало о неправильном выборе массы проб исследуемых продуктов. В связи с этим полученные растворы белков разводили водой до необходимой для проведения электрофореза концентрации (табл.1).

Содержание белка в объектах исследований

Наименование объектов исследований	Вид экстрагента	Масса пробы, г	Содержание белка, %		Разведение, раз
			фактическое	По данным литературы [5]	
Смесь мяса говядины и свинины (1:1)	Ацетон, Тритон X100	1,0	25,6	20,4-21,6	16,7
Казеинат натрия	Мочевина	0,5	100,0	не<86	50,0
Соевый изолят	Тритон X100	0,1	100,0	не<90	6,6
Колбаса вареная	Тритон X100	1,0	25,5	не<10,1	5,1
	Ацетон, Тритон X100	1,0	27,2	то же	5,5
	Мочевина	1,0	1,8	то же	0,4

Результаты электрофоретического разделения белков и расчета их ОЭП представлены в табл.2,3.

Анализ данных табл.2 показал, что наименьшее количество белковых фракций (6), расположенных внизу гелевой пластины, содержал казеинат натрия. Согласно данным литературы такие значения ОЭП имеют фракции γ -; β -; α_{s1} -; α_{s2-5} -; α_{s4} - казеина.

Электрофореграмма соевого изолята содержала 14 фракций (табл.2), расположенных по всей высоте гелевой пластины. Белковые фракции соевого изолята относились к белкам класса глобулинов (легулин, фазеолин), глицининов, альбуминов (легумелин) и гликопротеидов (вицилин).

Таблица 2

Относительная электрофоретическая подвижность белковых групп исследуемых продуктов

Интервал ОЭП	Смесь мяса говядины и свинины (1:1)		Казеинат натрия		Соевый Изолят	
	Число фракц	ОЭП	Число фракц	ОЭП	Число фракц	ОЭП
0,1-0,2	1	0,13			2	0,14;0,18
0,2-0,3	2	0,21;0,27	1	0,26	2	0,20;0,25
0,3-0,4	-				1	0,33
0,4-0,5	1	0,45	2	0,47;0,49	2	0,40;0,44
0,5-0,6	1	0,55	3	0,52;0,56; 0,56	2	0,50;0,57
0,6-0,7	3	0,6;0,63;0,6 9			2	0,62;0,68
0,7-0,8	1	0,73			2	0,72;0,76
0,8-0,9	2	0,85;0,88			1	0,80
0,9-1,0	3	0,92;0,930,95				

Электрофореграмма мясных белков (табл.2) свидетельствовала о наличии в исследуемом образце миогена В, миоглобина, миоальбумина, актина, тропомиозина, коллагена и эластина.

Сравнивая электрофореграммы исследованных нами животных и растительных белков (табл.2), можно отметить явные различия в положении белковых зон. Поэтому эти электрофореграммы использовали для контроля, чтобы судить о качестве белковых веществ колбасы вареной и возможной фальсификации.

Электрофореграммы экстрактов колбасы вареной (табл.3) различались между собой в зависимости от используемых экстрагентов и свидетельствовали о том, что наиболее оптимальной пробоподготовкой было предварительное обезжиривание исследуемого продукта (обработка ацетоном) и экстракция тритоном X100. Кроме того, количество белковых зон на электрофореграмме колбасы вареной было незначительным, что можно объяснить потерей электрофоретической подвижности некоторых белковых групп вследствие денатурации белков в процессе производства колбас вареных.

Таблица 3

Относительная электрофоретическая подвижность белковых групп вареной колбасы

Интервалы ОЭП	Экстракты колбасы вареной, полученные при использовании					
	Мочевины		Тритона X100		Ацетон, Тритон X100	
	Число фракц.	ОЭП	число фракц.	ОЭП	Число фракц.	ОЭП
0,3-0,4	1	0,30				
0,4-0,5			1	0,48	1	0,45
0,5-0,6			1	0,55	2	0,52;0,55
0,6-0,7					1	0,60
0,7-0,8			1	0,77	1	0,78
0,8-0,9						

Сравнение ОЭП животных и растительных белков с ОЭП колбасы вареной (табл.2,3) показало наличие в готовой продукции наряду с мясом добавки казеината натрия, что соответствовало рецептуре данного вида колбасы вареной[2].

Кроме того, некоторые белковые фракции не соответствовали ни одному из исследованных нами белоксодержащих компонентов. Это дает возможность предполагать наличие дополнительных компонентов, введенных в состав колбасы вареной, например муки и др.

Заключение

На основании проведенных исследований можно сделать вывод о том, что выбранный нами метод электрофоретического разделения белков вареных колбас позволяет достаточно точно идентифицировать белковые вещества готовой продукции. Сравнивая электрофореграммы белковых групп сырья и готовой продукции, можно объективно выявить наличие фальсификации колбасных изделий.

Литература:

1. Николаева Л.А., Лычников Д.С., Неверов А.И. Идентификация и фальсификация пищевых продуктов. М.: Экономика, 1996.-108 с.
2. СТБ 126-96 Колбасы вареные. Общие технические условия.
3. Практикум по биохимии. Учебное пособие. Под ред. С.Е.Северина, Г.А.Соловьевой М.: Изд-во МГУ. 1989.-569 с.
4. Савицкий А.Н. Комплексное экспертное исследование вареных колбас. М.: ЭКЦ МВД России, 1992.-ч. 1-40с.

* * *

ОПРЕДЕЛЕНИЕ РУТИНА И КВЕРЦЕТИНА В РАСТИТЕЛЬНЫХ ПРОДУКТАХ

Егорова З.Е., Шекутнева Т., Дрозд Д., Жуковская А.И., Рослик В.Л.

*Белорусский государственный технологический университет,
РНТЦ «Экомир», УП «Стандартплодоовощ»*

Основной причиной различных заболеваний человека, исключая генетическую предрасположенность, является нарушение обмена веществ, которое обусловлено неполноценным питанием. Современный человек должен употреблять в пищу такие продукты, которые являются не только источниками строительных веществ, но и обладают способностью нейтрализовать последствия всевозможных стрессов на организм человека.

Традиционная пища не обладает такими свойствами в полной мере, поэтому существует необходимость добавления к продуктам питания так называемых биологически активных добавок (БАД) - многокомпонентных комплексов, тщательно сбалансированных по необходимым для организма человека биологически активным веществам. Следует отметить, что оздоровительное действие многих биологически активных добавок обязано высокому содержанию в них полифенольных соединений и, в частности, флавоноидов [1,2]. Наиболее перспективными веществами этой группы для использования в качестве БАД являются рутин и кверцетин, а также производные кверцетина [3].

Литературные данные [4-6] свидетельствуют о том, что, несмотря на схожесть структуры, все флавоноидные соединения достаточно четко различаются по ряду химических свойств, в связи с чем для определения конкретного вида флавоноида широкое распространение получили методы жидкостной и тонкослойной хроматографии.

Поэтому целью данной работы было определение рутина и кверцетина хроматографическими методами в растительных продуктах.

Методика исследования

Объектами исследований служили образцы гречки, черники и плодов шиповника сушеных, листа лавра благородного, кориандра посевного, асептически консервированных пюре из черноплодной рябины, пюре из клюквы и сока из черноплодной рябины концентрированного, сушеных листьев подорожника и травы зверобоя.

Выбор объектов исследований был обусловлен следующими причинами:

- согласно данным литературы [7] выбранные нами растительные пищевые продукты и лечебные травы — источники рутина и кверцетина;
- вышеуказанные продукты часто используются в качестве пряностей и составных частей купажируемых продуктов на консервных предприятиях республики и пользуются широким спросом у населения.

Также объектами исследований были препараты рутина производства фирмы Merck, марки «экстра чистый», и кверцетина, использованные нами в качестве контроля.

Экспериментальная часть работы была выполнена на кафедре физико-химических методов сертификации продукции БГТУ и РНТЦ «Экомир».