

ДЕЙСТВИЕ ПРОТЕОЛИТИЧЕСКИХ ФЕРМЕНТОВ НА БЕЛКИ РЫБ В ПРИСУТСТВИИ ХЛОРИСТОГО КАЛЬЦИЯ

Канд. техн. наук Г. К. КОВАЛЬЧУК

В целях приготовления наиболее полно усвояемых рыбных продуктов необходимо знать, какое действие оказывают такие факторы, как тепло, свет, соли и другие на растворимость мышечных белков рыбы протеолитическими ферментами.

В наших предыдущих работах [1, 2, 3] освещено влияние на протеолиз тепла и различных концентраций хлористого натрия, а в настоящей работе — хлористого кальция.

Практика посола рыбы показала, что при наличии в поваренной соли солей кальция ухудшается качество рыбы — мышцы ее белеют и становятся жесткими. Кроме того, по данным Л. П. Миндера и А. И. Минкиной, в этом случае увеличиваются потери. В литературе встречаются сообщения об ускоряющем действии на протеолиз малых концентраций солей кальция в кислой среде (рН 4,5). С этим трудно согласиться, так как мышцы рыбы, становясь более жесткими, очевидно, оказываются менее доступными растворяющему и расщепляющему действию ферментов.

Для выяснения этого вопроса мы провели ряд опытов с белковым препаратом, полученным из рыбы, и непосредственно с мясом рыбы, подвергая их действию протеолитических ферментов при различных концентрациях хлористого кальция (несколько ниже и выше допустимых при обычном посоле).

О результатах ферментативного действия судили по переходу белков в раствор и по накоплению аминного азота продуктов распада белков. Переход белков в раствор определяли рефрактометрическим методом, а аминный азот — газометрическим методом в аппарате Ван-Слайка.

Изучая влияние на протеолиз хлористого натрия, мы брали три фракции белков, полученные из мышц рыбы: водо-, соле- и щелочерастворимые. Поскольку существенной разницы в характере кривых растворимости этих фракций не наблюдалось, для данной работы мы взяли только солерастворимые белки, которые, как известно, составляют основную массу мышечных белков рыбы.

Солерастворимые белки были получены из мышц охлажденной трески путем обработки их (после извлечения водорастворимых белков) 8%-ным раствором хлористого аммония и осаждения белков из солевой вытяжки десятикратным разведением ее водой при оптимальном рН. Осадок белков отделяли центрифугированием, многократно обрабатывали спиртом и эфиром и высушивали в вакуум-эксикаторе над хлористым кальцием. Полученные солерастворимые белки были белого цвета, без запаха и вкуса. Химическая характеристика их приведена ниже.

| | |
|--|-------|
| Оптimum осаждения при рН | 6,27 |
| Количество сухого препарата в % к белкам мышц | 38,80 |
| Содержание в % к весу препарата | |
| влаги | 4,60 |
| зола | 0,26 |
| азота | 16,00 |
| Содержание аминного азота после полного кислотного гидролиза препарата | |
| в % к препарату | 12,06 |
| в % к азоту препарата | 75,37 |

При изучении протеолиза мышц брали мышцы живой красноперки, а в качестве ферментов использовали кристаллический пепсин и трипсин.

Навески белкового препарата (100 мг) и измельченных мышц (1000 мг) помещали в сухие стеклянные бюксы. Приготовляли смеси, содержащие 0,5% пепсина, 0,2%-ный раствор соляной кислоты и различное количество хлористого кальция с таким расчетом, чтобы в приготовленных смесях содержалось 0,1; 0,5; 1; 2 и 5% Са⁺⁺. Контрольный опыт проводили без добавления хлористого кальция. Общий объем смеси во всех пробах составлял 10 мл. В качестве консерванта в смесь прибавляли по маленькому кристаллу тимола, а затем измеряли показатель преломления смеси при температуре 37°. Смеси с известным показателем преломления приливали к навескам белкового препарата или мышц, тщательно размешивали стеклянными палочками, закрывали крышками и ставили в термостат с температурой 37°. Показатель преломления многократно измеряли в течение первых 4—5 час. (после чего содержимое проб перемешивали), а затем через 24 часа после начала протеолиза.

Для перехода от показателя преломления к количеству белка в опытах с белковым препаратом предварительно определяли удельный прирост преломления, оказавшийся равным 0,0020 (при 37°).

В результате рефрактометрических измерений (см. рисунок) было установлено, что после двухчасового действия пепсина на белковый препарат в пробе без Са⁺⁺ белки полностью перешли в раствор. В присутствии 0,1% Са⁺⁺ через 2,5 часа в раствор перешло 80% белков, но в дальнейшем количество их не увеличивалось. В остальных пробах переход белков в раствор был сильно замедлен. Так, через 4,5 часа в пробе, содержащей 0,5% Са⁺⁺, в раствор перешло 50% белков, в пробе с 1% Са⁺⁺ — 35%, а с 2 и 5% Са⁺⁺ — всего 15%.

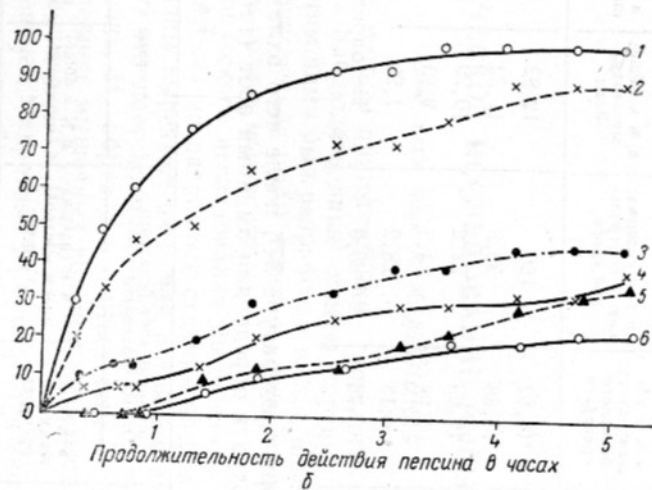
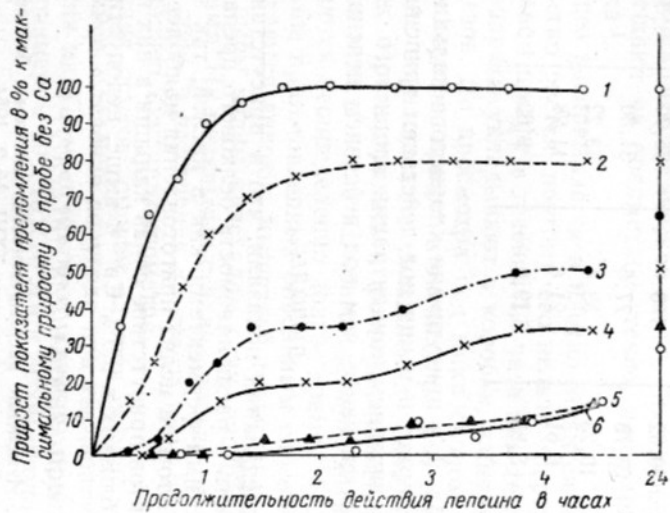
Таким образом, даже при малых концентрациях (0,1%) хлористого кальция растворимость белкового препарата под действием пепсина снижается. Увеличение продолжительности протеолиза свыше 4,5 часа (до 24 час.) очень мало способствует дальнейшему растворению белков.

Аналогичным образом хлористый кальций влияет и на растворимость мышц.

Для выяснения влияния хлористого кальция на расщепляемость белкового препарата и мышц под действием пепсина в термостат ставили по шесть аналогичных проб (без Са⁺⁺ и с различным содержанием его). Через 24 часа пробы охлаждали до 7°, отфильтровывали и в 1 мл фильтрата определяли аминный азот (табл. 1).

Из приведенных данных видно, что в присутствии хлористого кальция (в кислой среде) расщепляемость белкового препарата и мышц рыбы под действием пепсина снижается.

Чтобы выяснить, будет ли действие хлористого кальция аналогичным по отношению к трипсину, действующему в щелочной среде, взяли по 5 навесок белкового препарата (по 100 мг каждая) и измельченных мышц (по 1000 мг) и добавили к ним по 10 мл смесей, содержащих цитратно-фосфорный буфер (рН 7,8), трипсин в количестве 0,5% и различные количества хлористого кальция. Во все пробы добавляли по кусочку тимола. Пробы, как и в предыдущем опыте, выдерживали в термостате



а Кривые растворимости:
 а—белкового препарата; б—мышц краснопёрки под действием пепсина при
 концентрациях Са⁺⁺: 1—без кальция; 2—0,1%; 3—0,5%; 4—1%; 5—2%; 6—5%.

Таблица 1

| Содержание CaCl_2 в % (в пересчете на Ca^{++}) | Аминный азот белкового препарата | | Аминный азот мышц | |
|---|---|--|---------------------------------|--|
| | в % к об- щему азоту белкового препарата | в % к содержа- нию в контроль- ной пробе | в % к обще- му азоту мышц | в % к содержа- нию в контроль- ной пробе |
| 0 | 14,82 | 100 | 12,82 | 100 |
| 0,1 | 13,88 | 93,8 | 11,22 | 87,5 |
| 0,5 | 10,69 | 72,2 | 10,20 | 79,6 |
| 1,0 | 7,88 | 53,2 | 9,83 | 76,8 |
| 2,0 | 4,18 | 28,2 | 7,98 | 62,2 |
| 5,0 | 3,70 | 25,0 | Не определялся | |

в течение 24 час. при температуре 37°, после чего охлаждали, фильтровали и в 1 мл фильтрата определяли аминный азот (табл. 2).

Таблица 2

| Содержание CaCl_2 в % (в пересчете на Ca^{++}) | Аминный азот белкового препарата | | Аминный азот мышц | |
|---|--------------------------------------|--|---------------------------------|--|
| | в % к об- щему азоту препарата | в % к содержа- нию в контроль- ной пробе | в % к обще- му азоту мышц | в % к содержа- нию в контроль- ной пробе |
| 0 | 30,62 | 100 | 35,70 | 100 |
| 0,1 | 23,75 | 77,5 | 31,30 | 87,7 |
| 0,5 | 10,23 | 33,4 | 13,22 | 37,2 |
| 1,0 | 6,61 | 21,6 | 11,28 | 31,6 |
| 2,0 | 5,88 | 19,2 | 9,65 | 27,1 |

Как видно из табл. 2, в присутствии хлористого кальция расщепляемость белкового препарата и мышц под действием трипсина также снижается, причем с увеличением концентрации хлористого кальция этот процесс идет даже интенсивнее, чем под действием пепсина.

ВЫВОДЫ

Проведенные исследования показали, что в присутствии хлористого кальция растворимость и расщепляемость белкового препарата и мышц рыбы протеолитическими ферментами как в кислой, так и в щелочной среде снижается. Поэтому в целях приготовления наиболее полно усвояемых рыбных продуктов присутствие солей кальция в них нежелательно, а в концентрациях, близких к 0,5% Ca^{++} и выше, недопустимо.

ИСПОЛЬЗОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. Ковальчук Г. К., Изменение расщепляемости мышечных белков рыбы пепсином при стерилизации, Укр. журнал, том XXVI, № 2, 1954.
2. Ковальчук Г. К., Влияние хлористого натрия на растворимость и расщепляемость мышечных белков рыбы пепсином, Труды АН Литовской ССР, серия БЗ, 1955.
3. Ковальчук Г. К., Влияние хлористого натрия на расщепляемость мышечных белков рыбы трипсином, Труды АН Литовской ССР, серия БЗ, 1955.
4. Замыслов А. Д., Протеазы рыб, Автореферат диссертации, 1949.
5. Замыслов А. Д. и Савостьянов, О протеолизе при посоле сельди, «Биохимия», т. 1, вып. 4, АН СССР, 1936.