РАЗДЕЛ IV. СЕЛЬСКОЕ ХОЗЯЙСТВО

Тазеддинова Д.Р.¹, Ребезов М.Б.¹, Прохасько Л.С.¹, Цыбина Е.А.²
Особенности оценки мясной продукции биокоррегирующего действия

¹Южно-Уральский Государственный университет

²Многопрофильный колледж ИСТуС
(Россия, Челябинск)

doi:10.18411/spc-22-11-2017-15

idsp: 000001:spc-22-11-2017-15

Аннотация

Пищевые продукты биокоррегирующего действия – это пищевые продукты и пищевые добавки, применяемые для профилактики, коррекции и поддержания функциональной активности органов и систем человека в физиологических границах за счет направленной модификации. Рассмотрены методы оценки мясной продукции биокоррегирующего действия. Оценка мясных продуктов биокоррегирующего действия осуществлялась с помощью функциональных маркеров и тканеспецифичных пептидов.

Ключевые слова: биокоррегирующее действие, здоровое питание, функциональный маркер, тканеспецифичный пептид, электрофорез, хроматография.

Сохранение и укрепление здоровья людей является важнейшей задачей любого цивилизованного государства. По оценке экспертов здоровье нации зависит от системы здравоохранения лишь на 8–12 %, тогда как доля влияния на здоровье социально-экономических условий и условий жизнедеятельности человека составляет 52–55%.

В связи с ухудшением социально-экономических и экологических условий жизни растет число заболеваний сердечно-сосудистой системы, органов дыхания, кроветворения, пищеварения. Это протекает на фоне постоянно возрастающего воздействия негативных факторов окружающей среды и снижения резистентности людей к ним, что приводит к снижению продолжительности жизни населения.

Одним из способов формирования здорового образа жизни населения является здоровое питание, при этом здоровое питание определяется как «питание, обеспечивающее рост, нормальное развитие и жизнедеятельность человека, способствующее профилактике заболеваний, укреплению здоровья, увеличению продолжительности жизни» [1].

Необходимы новые подходы к созданию пищевых, в том числе и мясных продуктов, базирующиеся на научно-обоснованных медико-биологических принципах, прогрессивных и экологически безопасных технологиях, способствующие максимальной оптимизации трофических систем, биологических сообществ и окружающей среды и, как следствие, максимальному оздоровлению организма человека. Для более быстрого и эффективного решения этих проблем одним из приобретенных направлений является создание продуктов здорового питания, включая продукты направленного действия с профилактическими, биокоррегирующими и лечебными свойствами [2,3].

Пищевые продукты биокоррегирующего действия: пищевые продукты и пищевые добавки, применяемые для профилактики, коррекции и поддержания в физиологических границах функциональной активности органов и систем человека за счет направленной in vitro или in vivo модификации.

Функциональный маркер: вещество белковой или пептидной природы, обеспечивающее заявленное биокорректирующее действие продукта.

Тканеспецифичный пептид: вещество пептидной природы, содержащееся в определенной ткани и обладающее направленным биологическим действием [4].

Производство мясных продуктов биокорректирующего действия является новым перспективным направлением в современной мясоперерабатывающей отрасли. Мясо и мясные продукты являются одной из самых сложных основ для создания продуктов специализированного назначения, хотя с точки зрения здорового питания мясо относится к важнейшим продуктам питания наряду с овощами, фруктами, картофелем и молочными продуктами. В организм человека с мясом поступают необходимые для жизни нутрицевтики, незаменимые аминокислоты, железо, витамины группы В. Принимая во внимание изложенные ранее принципы создания функциональных продуктов питания для мясных продуктов, наиболее предпочтительными функциональными ингредиентами являются пищевые волокна, полиненасыщенные жирные кислоты и витамины [5].

Особенностью оценки мясных продуктов биокорректирующего действия является подтверждение функциональных маркеров и тканеспецифичных пептидов. Осуществляется это двумя методами:

1. Метод идентификации функциональных маркеров проводят по методике двумерного электрофореза.

Электрофорез занимает сейчас центральное место среди методов исследования белков и нуклеиновых кислот. Этот метод позволяет разделить макромолекулы, различающиеся по таким важнейшим параметрам, как:

- размеры (молекулярная масса);
- пространственная конфигурация;
- вторичная структура;
- электрический заряд.

Физический принцип метода заключается в следующем. Находящиеся в буферном растворе макромолекулы обладают некоторым суммарным электрическим зарядом, величина и знак которого зависят от pH среды. Если через этот раствор начать пропускать электрический ток, то по его ходу установится определенный градиент напряжения, т. е. сформируется электрическое поле. Его напряженность измеряется разностью потенциалов по концам рабочего канала, отнесенной к его длине (В/см). Под действием поля макромолекулы в соответствии со своим суммарным зарядом мигрируют к аноду или катоду, причем их трение об окружающую среду ограничивает скорость миграции. В зависимости от величины заряда и размера различные молекулы приобретают разные скорости – и в этом есть сущность процесса электрофореза. Постепенно исходный препарат, состоящий из разных макромолекул, разделяется на зоны одинаковых молекул, мигрирующих с одной и той же скоростью. Со временем эти зоны распределяются по длине канала. Кроме рабочего канала (например, трубки, заполненной раствором препарата) необходимыми компонентами рабочей установки являются: во-первых, два электрода, во-вторых, электродные резервуары. Через находящиеся в электродных резервуарах буферные растворы и рабочий канал замыкается электрическая цепь между электродами (рис. 1).

В настоящее время для разделения пептидов и нуклеиновых кислот чаще всего используют полиакриламидные гели (ПААГ) и гели агарозы. Варьируя концентрацию этих полимеров, можно получать гели с очень широким диапазоном размеров пор. Кроме того, можно изменять электрические заряды макромолекул путем вариации pH

буфера, а также путем введения в буфер денатурирующих агентов или детергентов. Все это придает методу электрофореза исключительную гибкость.

В ходе электрофореза зоны растворенных молекул остаются невидимыми. Для наблюдения за процессом в препарат добавляют краситель, движущийся в электрическом поле аналогично разделяемым молекулам (имеющий сходную электрическую подвижность), но в виде окрашенной зоны. Когда эта зона доходит до конца рабочего канала, электрофорез останавливают. Разделившиеся зоны во избежание диффузии немедленно фиксируют. Зоны наблюдают, как правило, с помощью метки, связывающейся с макромолекулами (обычно, флуоресцентной, радиоактивной).

Если сравнивать одномерный гель-электрофорез ПААГ, то следует отметить, что он не способен фракционировать смеси, содержащие более 100 белков. Поэтому он не пригоден для анализа сложной смеси белков, полученных от целых клеток, тканей или биологических жидкостей, содержащих намного большее число белков. Чтобы решить проблему фракционирования протеома, используют двумерный гель-электрофорез (2Д-электрофорез). При осуществлении 2Д-электрофореза белки разделяют по двум различным физико-химическим свойствам. Вначале белки разделяют в первом направлении по заряду согласно их изоэлектрической точке путем изоэлектрического фокусирования (ИЭФ), а затем во втором направлении – согласно их молекулярной массе с помощью электрофореза в ПААГ. Обе процедуры проводят в полиакриламидном геле. В результате проведения 2БД-электрофореза получают электрофореграмму, на которой представлено много пятен белков.

Необходимо помнить, что экстракты белков могут содержать различные, мешающие проведению анализа примеси, такие как: нуклеиновые кислоты, фосфолипиды, полисахариды, твердые частицы. Они могут мешать проведению анализа и нежелательным образом модифицировать белки. Так, например, нуклеиновые кислоты способны связываться с белками и увеличивать вязкость исследуемых растворов. Посторонние примеси необходимо удалить из исследуемых образцов. Нуклеиновые кислоты удаляют путем обработки проб РНК- и ДНК-нуклеазами, которые добавляют к экстрагирующей смеси. Липиды могут быть удалены преципитацией. Соли удаляют диализом или с помощью гель-фильтрации, твердые частицы – центрифугированием.

2. Метод идентификации тканеспецифических пептидов методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

Хроматограф жидкостный предназначен для разделения анализируемой смеси на компоненты, их детектирования, идентификации и количественного анализа методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЖЭХ). Высокоэффективный хроматограф жидкостный сегодня неперенный атрибут лабораторий экологического контроля, пищевой и химической промышленности, в нефтехимии, медицине, фармакологии и т.д. Для так называемых рутинных анализов хроматограф жидкостный может быть доукомплектован автосамплерами, насосами с функциями автоматической промывки колонок и т.д.

Принцип работы жидкостного хроматографа следующий. Подвижная фаза из резервуара через дегазатор попадает в хроматографическую колонку. В зависимости от способа вымывания вещества (градиентного или изократического) различают несколько типов жидкостных хроматографов.

В настоящее время ОФ ВЭЖХ является важнейшим методом разделения пептидов. Это обусловлено тем, что данный метод характеризуется высокой скоростью

разделения, воспроизводимостью результатов, селективностью и возможностью проведения препаративных разделений. Еще одним преимуществом ОФ ВЭЖХ является возможность сбора фракций в малом объеме летучих растворителей, что упрощает дальнейшее проведение масс-спектрометрического анализа. Большое разнообразие сорбентов с привитыми гидрофобными радикалами в сочетании с растворителями различной элюирующей силы позволяет изменять селективность хроматографической системы в очень широких пределах. Кроме того, данный метод позволяет предсказывать хроматографическое поведение пептидов.

Масс-спектрометрия в настоящее время является одним из наиболее информативных методов анализа пептидов. Данный метод детекции обладает очень высокой чувствительностью. Так как пептиды являются термолабильными веществами, то для их ионизации используют наиболее мягкие способы: ионизацию электрораспылением (Electrospray Ionization, ESI) и ионизацию лазерной десорбцией в присутствии матрицы (Matrix - Assisted Laser Desorption/Ionization, MALDI).

К недостаткам этого метода следует отнести трудности, возникающие при вводе хроматографически выделенной пробы в ионный источник масс-анализатора. При этом предварительно необходимо удалить растворитель, что, в свою очередь, налагает ограничения на состав подвижной фазы. Кроме того, данный метод детекции является одним из самых дорогих.

К преимуществам ВЭЖХ по сравнению с методом капиллярного электрофореза можно отнести более высокую концентрационную чувствительность и воспроизводимостью результатов анализа.

1. Чернуха И.М. Мясо и здоровое питание / Чернуха И.М., Лисицын А.Б., Сизенко Е.И. и др. –М.: ВНИИМП, 2007. 289 с.
2. Овчинников Ю.А. Биоорганическая химия / Овчинников Ю.А. –М.: Просвещение, 1987. – 815 с.
3. Чернуха И.М. Функциональные продукты – методологические, технологические и трофологические аспекты производства / Чернуха И.М. // Мясная индустрия, 2002. –№ 2. –С.21-22.
4. ГОСТ Р 1.7.036-1.006.16 Продукция пищевая специализированная. Консервы мясные специализированные фаршевые биокорректирующего действия. Технические условия. М.: Изд-во Стандартиформ, 2016.- 19 с.
5. Бурцева Т.И. Развитие технологий функциональных и специализированных продуктов питания животного происхождения / Бурцева Т.И., Ребезов М.Б., Асенова Б.К, Стадникова С.В. –Алматы, 2015.