



**МОРФОЛОГИЧНИ ИЗМЕНЕНИЯ В M. LONGISSIMUS DORSI ПО ВРЕМЕ НА КИСЕЛИННО МАРИНОВАНЕ
С НАТРИЕВ ЛАКТАТ
EFFECT OF ACID MARINATING WITH SODIUM LACTATE ON MORPHOLOGICAL CHANGES
IN M. LONGISSIMUS DORSI**

**Десислава Влахова-Вангелова*, Десислав Балеv, Стефан Драгоеv
Dessislava Vlahova-Vangelova*, Dessislav Balev, Stefan Dragoev**

Катедра „Технология на месото и рибата”, Технологичен факултет
Университет по хранителни технологии – Пловдив
Department of Meat and Fish Technology, Technological Faculty
University of Food Technologies, Plovdiv, Bulgaria

*E-mail: desislava_vangelova@abv.bg

Резюме

Изследван е ефектът на киселинно мариноване с натриев лактат върху морфологичните изменения, настъпващи в *m. Longissimus dorsi*, добит от свинско месо. Свински котлет (48 h post mortem) е маринован чрез накисване в саламура, представляваща 2%-ов разтвор на натриев хлорид и 2% натриев лактат за 48 h в хладилни условия при $0 \pm 4^\circ\text{C}$. Контролната проба е съхранявана 48 h във въздушна среда при $0 \pm 4^\circ\text{C}$. Анализът на получените данни показва, че водопоглещателната способност и масата на киселинно маринованото месо нараства. При светлинна микроскопия на срези от киселинно мариновано месо се наблюдава набъбване на мускулните влакна и нарастване на техния диаметър. Откриват се морфологични изменения и в съединителната тъкан на маринованото месо, като тя изглежда по-разпръсната и с нарушена подредба. Светлинната микроскопия на проби, контрастирани с хематоксилин по Mayer и пикрофуксин по Van-Gieson, може да бъде използвана успешно за проследяване на морфологичните изменения, настъпващи по време на мариноване на месото.

Abstract

The effect of acid marination on morphological changes in *m. Longissimus dorsi* during 48 hours acid marinating was studied. Muscles (48 h post mortem) were immersed in brine solution contained 2% sodium chloride and 2% sodium lactate and stored at $0 \pm 4^\circ\text{C}$ (meat pH after 48 hour marinating was 5,8). Control sample was kept in air conditions at $0 \pm 4^\circ\text{C}$. Compared to untreated control, treated meat show higher marinade pick up and weight gain. Morphological observations during light microscopy demonstrated swelling of muscle fibers and increase in their diameter. Meat structure in acid marinated meat looks more homogenous due to strong effect of sodium lactate. Compared to control sample, connective tissue in acid treated meat was found clearly disordered. Sample preparations with Mayer's haematoxylin or Van-Gieson's picrofuchsin for light microscopy may be used effective for morphological observation of muscle and connective tissue changes during marinating.

Ключови думи: киселинно мариноване, мускулна тъкан, морфология.

Key words: acid marination, meat structure, morphology.

ВЪВЕДЕНИЕ

Мариноването е процес, при който месото се третира с различни разтвори с цел подобряване на органолептичните характеристики, функционалните свойства, трайността и рандемана на готовия продукт. Много потребители не одобряват твърдото и жиливо месо, което налага в месната индустрия да се използват добавки за получаване на по-сочен и нежен продукт (Xu et al., 2007). Възможно е мариноването да се извърши

с: алкални маринатни разтвори, представляващи солно-фосфатни смеси (Brooks, 2005); киселинни маринатни разтвори, съдържащи органични киселини или техни соли; водно-маслени емулсии за мариноване, съставени от сол, захар, оцетна или лимонена киселина и други добавки. Разтворите за мариноване може да включват още натурални или сушени съставки, подправки, билки и различни екстракти (Miller, 1998), хидроколоиди, антимикробни агенти, овкусители и антиоксиданти.

Докато мариноването със солно-фосфатни разтвори повишава рН, което може да стимулира гнилостната микрофлора с оптимум на развитие в алкалната област (Jeremiah & Gibson, 2001), то киселите мариновани разтвори понижават рН и навлизат все по-широко в практиката поради способността им да инхибират микробния растеж. Този антиминобен ефект се дължи на присъстващите в киселинните мариновани разтвори слаби органични киселини (оцетна, млечна) или техни соли (лактати, ацетати) и NaCl (Goli et al., 2007; Lemos et al., 1999; Yusop et al., 2010).

В състава на киселинните мариновани разтвори най-често влизат натриев лактат, калиев лактат, натриев цитрат и комбинации на калиев лактат и диацетат (Alvarado and McKee, 2007). Докато алкалната солно-фосфатна маринована увеличава водозадържащата способност и повишава нежността на месото, силно киселите мариновани с рН от 4,0 до 5,0 довеждат до силно окрехотяване на месото поради денатуриране на белтъците. Според Offer and Knight (1983) е възможно окрехотяването на киселинно маринованото месо да се дължи и на набъбване в съединителнотъканните влакна. Подобни изменения са установени и в алкално маринован *m.biceps femoris* (Sultana et al., 2008).

Чрез имунохистохимични методи е установено, че мариноването с натриев хлорид и натриев бикарбонат засяга предимно перимизиума на съединителната тъкан на (колаген тип I) (Sultana et al., 2008). Според Balcerzac et al. (2001) подобни деформации се дължат на набъбването на миофибрилите, а не на действието на протеази (latent matrix degrading proteinases).

От гореизложеното става ясно, че съставът на маринованите разтвори предизвиква промени в структурата както на мускулната, така и на съединителната тъкан на месото. Вследствие на това се променят неговите технологични и органолептични свойства.

Тъй като от направения преглед на достъпните литературни източници е видно, че алкалното солно-фосфатно мариноване е широко изследвано, си поставихме за цел да установим морфологичните изменения, настъпващи в *m. Longissimus dorsi* по време на киселинно мариноване с натриев лактат чрез използване на методи, които демонстрират промените в мускулната и съединителната тъкан.

МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ

Материали. За целите на изследването е използван охладен свински котлет (*m. Longissimus dorsi*), добит от прасета на възраст 165 дни, с жива маса 115 кг, доставен от „Ритон 38“ ООД, с. Първенец, Община Родопи, Област Пловдив. Месодобивът е

осъществен в месокомбинат “Братя Къртеви”, с. Радиново, Община Марица, Област Пловдив.

Натриевият лактат (60%-ов разтвор) е закупен от фирма „Теоком“ ООД, парт. № 1050. Натриевият хлорид (готварска сол) е закупен от търговската мрежа.

Чрез разреждане от 60%-ов натриев лактат е приготвен 1 L 2%-ов разтвор на натриев лактат, в който е добавен натриев хлорид до достигане на 2% концентрация в получения разтвор.

Постановка на опита. Месните проби са получени от охладен свински котлет (48 h post mortem), нарязан на парчета с размери 10 x 6 x 2 cm. Пробите са поставени в съд заедно с маринования разтвор за 48 h в хладилни условия 0-4°C. Използваното съотношение разтвор:проба е 2:1. Контролната проба е съхранявана във въздушна среда за 48 h при същите условия.

Методи за анализ

Водопоглъщаща способност

Водопоглъщащата способност представлява разликата в масата на месото след престой в маринования разтвор и масата му преди мариноването, разделена на масата му преди мариноването, умножена x 100, в % (Dragoev, 1997).

Подготовка на проби за морфологичен анализ, контрастирани с хематоксилин

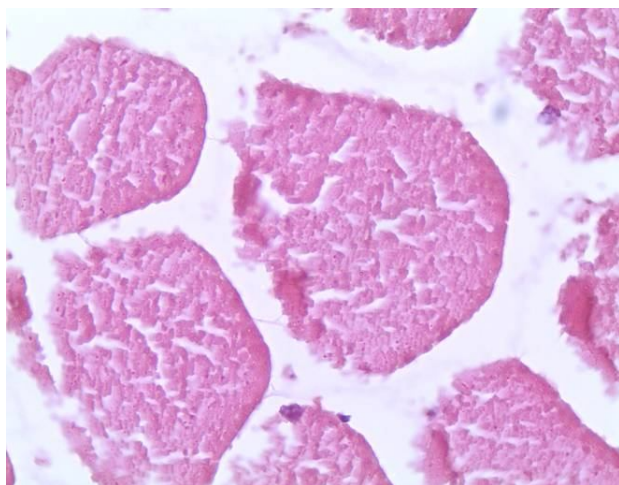
За морфологичен анализ са използвани проби с размери 2x1x1 cm. Фиксирането на пробата е извършено чрез последователно дехидратиране в разтвори на формалин, 96%-ов етилов алкохол, абсолютен алкохол, ацетон, ксилол, след което пробата е включена в парафин. Срезите (с дебелина 5 µm) са нарязани на микротом, монтирани на предметни стъкла и контрастирани с хематоксилин по Mayer.

Подготовка на проби за морфологичен анализ, контрастирани с пикрофуксин

За морфологичен анализ са използвани проби с размери 2x1x1 cm. Фиксирането на пробата е извършено чрез последователно дехидратиране във формалин (24 h), 96%-ов етилов алкохол (2 h), абсолютен алкохол (2 h), ацетон (30 min), ксилол (30 min), след което пробата е включена в парафин. Срезите (с дебелина 5 µm) са нарязани на микротом и монтирани на предметни стъкла. Контрастирани са с хематоксилин по Weigert и с пикрофуксин по Van-Gieson.

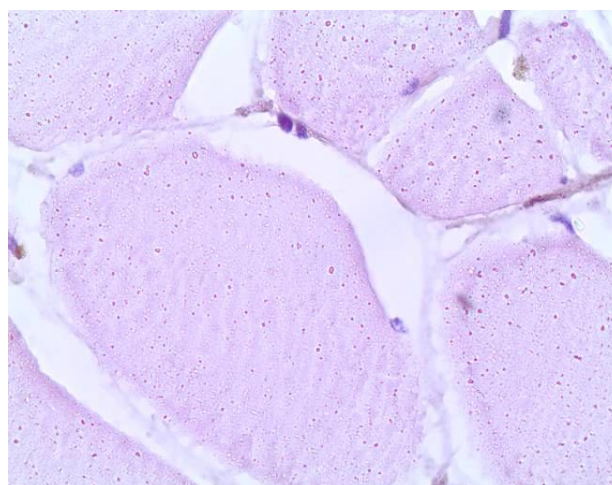
РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

Установено е, че при прилагане на киселинен маринован разтвор, съдържащ 2% натриев хлорид и 2% натриев лактат, морфологичната структура на маринованото месо (*m. Longissimus dorsi*) значително се променя (фиг. от 1 до 6). Установено е, че съставките на маринования разтвор (2% натриев хлорид и 2% натриев лактат) подпомагат отварянето на миофибриларната решетка на тъканта и по този начин



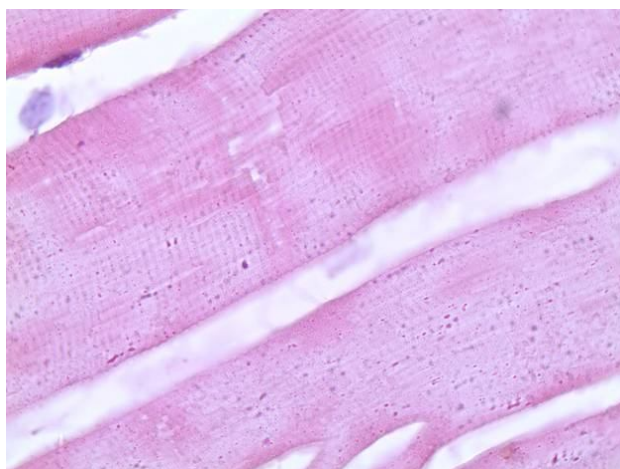
Фиг. 1. Контрола (немариновано месо), напречен срез на *m. Longissimus dorsi* (48 h post mortem), контрастиран с хематоксилин, 100x

Fig. 1. Control sample (untreated meat) transverse section of *Longissimus dorsi* (48 h post mortem), stained with hematoxylin, 100x



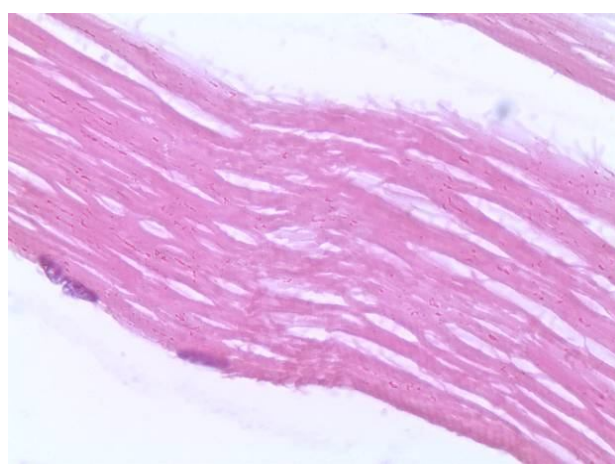
Фиг. 2. Напречен срез на *m. Longissimus dorsi*, след 48 h мариноване с 2% натриев лактат и 2% натриев хлорид, контрастиран с хематоксилин, 100x

Fig. 2. Meat treated with 2% sodium chloride and 2% sodium lactate (48 h), transverse section of *Longissimus dorsi*, stained with hematoxylin, 100x



Фиг. 3. Контрола (немариновано месо), надлъжен срез на *m. Longissimus dorsi* (48 h post mortem), контрастиран с хематоксилин, 100x

Fig. 3. Control sample (untreated meat) longitudinal section of *Longissimus dorsi* (48 h post mortem), stained with hematoxylin, 100x



Фиг. 4. Надлъжен срез на *m. Longissimus dorsi*, след 48h мариноване с 2% натриев лактат и 2% натриев хлорид, контрастиран с хематоксилин, 100x

Fig. 4. Meat treated with 2% sodium chloride and 2% sodium lactate (48 h), longitudinal section of *Longissimus dorsi*, stained with hematoxylin, 100x

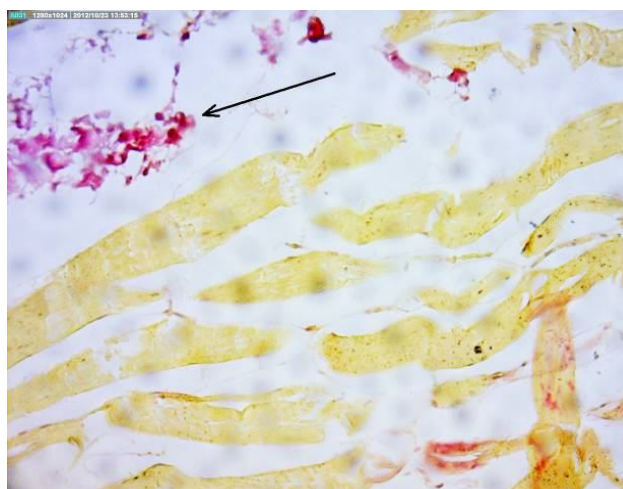
допринасят за повишаване на количеството задържана вода. В резултат на това мускулните влакна набъбват и техният диаметър нараства. Тези изменения са добре демонстрирани при светлинна микроскопия (100x) на напречни срези (фиг. 1 и фиг. 2) от *m. Longissimus dorsi*.

Резултати, подобни на нашите, са докладвани от Sultana et al. (2008) при проследяване на морфологични изменения в *m. biceps femoris*,

инжектиран с разтвор, съдържащ натриев хлорид и натриев бикарбонат. Авторите установяват промени, засягащи мускулната и съединителната тъкан на *m. biceps femoris*. Според техните данни мариноването с натриев хлорид и натриев бикарбонат води до разрохкване на миофibrилите и нарушения в подредбата на съединителната тъкан.



Фиг. 5. Контрола (немариновано месо), надлъжен срез на *m. Longissimus dorsi* (48 h post mortem), контрастиран по Van-Gieson, 20x
Fig. 5. Control sample (untreated meat) longitudinal section of *Longissimus dorsi* (48 h post mortem), Van-Gieson's stained, 20x



Фиг. 6. Надлъжен срез на *m. Longissimus dorsi*, след 48h мариноване с 2% натриев лактат и 2% натриев хлорид, контрастиран по Van-Gieson, 20x
Fig. 6. Meat treated with 2% sodium chloride and 2% sodium lactate (48 h), longitudinal section of *Longissimus dorsi*, Van-Gieson's stained, 20x

Таблица 1. Изменение в масата и водопоглъщащата способност по време на киселинно мариноване с натриев лактат

Table 1. Effect of acid marinating with 2% sodium chloride and 2% sodium lactate (48 h) on weight gain and marinade uptake

Маса контролна проба Weight control sample, g	Маса мариновано месо (48 h) Weight marinated meat (48 h), g	Водопоглъщаща способност Marinade uptake, %
52,78±0,39	59,78±0,69	13,25±0,78

Анализът на микроскопските препарати се потвърждава от получените данни за повишаване на масата и респ. водопоглъщащата способност (табл. 1) след 48 h киселинно мариноване на месото.

Установено е, че масата на пробите нараства с 13,26%, което съответства на водопоглъщащата способност на месото и би трябвало да се очаква, че с такъв процент ще нарасне и водното му съдържание. След мариноване структурата на мускулната тъкан е по-хомогенна (фиг. 2). При микроскопско изследване на надлъжен срез от киселинно маринован *m. Longissimus dorsi* (фиг. 3 и 4) се наблюдава разрохкване на мускулните влакна, нарастване на пространствата между и вътре в тях и навлизане на мариноващ разтвор. Всичко това може да предполага известно окрежкотяване на месото и повишаване на неговата нежност и сочност след топлинна обработка.

При светлинна микроскопия на контрастирани по метода на Van-Gieson проби е установено ясно разграничаване на мускулната от съединителната тъкан. Това се дължи на способността на използвания

при контрастирането пикрофуксин да обагрят мускулната тъкан в жълт, а съединителната тъкан – в червен цвят.

Наблюдавано е, че съединителната тъкан в контролната проба (48 h post mortem) (фиг. 5) е с нативна цялост, докато в опитната проба от мариновано месо (фиг. 6) съединителнотъканните влакна са поразпръснати и с нарушена подредба, което е едно потвърждение за това, че освен мускулните влакна по време на мариноване набъбват и съединителнотъканните влакна и тяхната структура се променя. Така получените резултати ни позволяват да направим извода, че оцветяването на проби по метода на Van-Gieson с успех може да се използва за установяване на изменения и в съединителната тъкан на мариновано с 2%-ов разтвор на натриев лактат и 2% натриев хлорид месо.

ИЗВОДИ

1. Получените резултати позволяват да се направи извода, че след 48 h мариноване с 2%-ов разтвор на натриев лактат и 2% натриев хлорид структурата



- на м. Longissimus dorsi се променя в значителна степен.
- Установено е набъбване и разрохкване на мускулните влакна, придружено с нарушена подредба и в съединителнотъканните влакна. Доказано е, че в условията на експеримента водопоглъщащата способност на маринованото месо е 13,26%.
 - Установено е, че контрастиране с хематоксилин и последваща светлинна микроскопия с успех може да се прилага за проследяване на измененията в мускулната тъкан по време на мариноване на свинско месо.
 - Установено е, че подготовката на пробите по метода на Van-Gieson е ефективен метод, който позволява наблюдаване на измененията и в съединителнотъканните влакна.

LITERATURA

- Dragoev, S.*, 1997. *Rakovodstvo za laboratorni uprazhnenia "Tehnologia na pticheto meso i yaytsata"*, VIHVP, 46-47.
- Alvarado, C., S. McKee*, 2007. *Marination to Improve Functional Properties and Safety of Poultry Meat* – J. Appl. Poult. Res., 16: 113–120.
- Brooks, J. C.*, 2005. *Tender is the bite* – Meat Marketing and Technology, 13(10): 101-104.
- Goli T, P. Abi Nakhoul, N. Zakhia-Rozis, G. Trystram, P. Bohuon*, 2007. *Chemical equilibrium of minced turkey meat in organic acid solutions* – Meat Sci., 75(2): 308-314.
- Jeremiah, L. E., L. L. Gibson*, 2001. *The influence of packaging and storage time on the retail properties and case life of retail-ready beef.* – Food Research International, 34: 815-826.
- Lemos, A. L. S.C., D.R.M. Nunes, A.G. Viana*, 1999. *Optimization of the stillmarinating process of chicken parts.* – Meat Sci., 52: 227-234.
- Miller, R.*, 1998. *Functionality of non-meat ingredients used in enhanced pork - Pork quality.*, National Pork Board – American Meat Science Association fact sheet., 1-12.
- Offer, G., and J. Knight*, 1983. *On the mechanism of water holding in meat: the swelling and shrinking of myofibrils.* – Meat Science, 8: 245-281.
- Sultana, A., A. Nakanishi, B. C. Roy, W. Mizunoya, R. Tatsumi, T. Ito, S. Tabata, H. Rashid, S. Katayama and Y. Ikeuchi*, 2008. *Quality Improvement of Frozen and Chilled Beef biceps femoris with the Application of Salt-bicarbonate Solution* – Asian-Aust. J. Anim. Sci. 21(6): 903-911.
- Xu, W.T., W. Qu., K. L. Huang, F. Guo, J.J. Yang, H. Zhao, Y.B. Luo*, 2007. *Antibacterial effect of Grapefruit Seed Extract on food-borne pathogens and its application in the preservation of minimally processed vegetables.* – Postharv Biol Technol, 45(1): 126–33.
- Yusop, SM, J. F. Kerry, J.P. Kerry*, 2010. *Effect of marinating time and low pH on marinade performance and sensory acceptability of poultry meat.* – Meat Sci., 85: 657-663.

Статията е приета на 12.12.2012 г.
Рецензент – доц. д-р Оксана Савинок
E-mail: savoksamit@mail.ru