

ВЛИЯНИЕ НА МАРИНАТИТЕ ВЪРХУ МЕСОТО

Категория „Изследователски проект“

Емил Мирчев, 10. клас¹

Ръководител: Галя Петрова

*Национална природо-математическа гимназия
„Акад. Любомир Чакалов“ – София*

Резюме. Настоящият проект проучва биохимичния процес на мариноване. Целта му е да покаже важността на денатурацията на белтъците за увеличаване еластичността на месото. Изследват се три вида месо в осем различни маринати, групирани в 4 категории: кисели, алкални, алкохолни и ензимни. Проучването изследва как времето за мариноване и химичният състав на маринатата влияят на еластичността и цвета на месото. Най-добри резултати се постигат при максимална денатурация на протеина еластин. Установява се, че мариноването води до пик на еластичността, след който настъпва ренатурация, като еластичността намалява. Това е доказателство, че изследването на пика на мариноването е ключово за оптималното увеличаване на мекотата на месото.

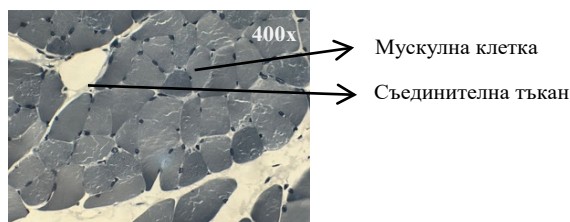
Ключови думи: мариноване; марината; денатурация; еластичност; цвят на месото

Въведение

Хората всекидневно използват маринати. Те са разтвори на вещества и подправки, които овкусяват и правят по-меки хранителните продукти, най-често месо. Омекотяването става чрез процеси на денатурация в съединителната тъкан на месото, като така то става по-еластично. Освен промените в еластичността и вкуса на месото след мариноване се променя и друго негово свойство, а именно цветът, по който можем да разберем кога е точният момент за спиране на процеса на мариноване. Както всеки би предположил, не всички видове месо са еднакви. Изследването е насочено към определяне на влиянието на различните маринати върху различни видове месо – тяхното денатуриране, времето, за което се осъществява този процес, и резултатите от прекомерно мариноване върху еластичността на месото.

Цел на мариноването

Основаната цел на мариноването от химична гледна точка е денатурацията. Месото е изградено от белтъци с различни функции, които са съставени от аминокиселинни остатъци. В мускулите има активна част, състояща се от мускулните клетки, която движи тялото в пространството, и съединителна тъкан, която в ежедневието е известна като жила (фиг. 1). Жилите съединяват отделните мускулните влакна. Съединителната тъкан се състои от предимно две белтъка: колаген и еластин (Judge et al., 1989; Pearson & Young, 1989). Тяхното денатуриране води до формиране на желатин, като това е целта на мариноването.



Фигура 1. Светлинно микроскопска снимка на напречно набраздена мускулна тъкан

Белтъците имат четири структури, от които три се формират чрез връзки между непоследователни аминокиселини в полипептидната(ите) верига. Видовете междумолекулни връзки, които ще се разгледат, са водородни, йонни и дисулфидни мостове.

Видове маринати

1. Киселинни маринати

При този тип мариноване се използват киселини. Те могат да се набавят от различни citrusови плодове или оцет. Когато киселината се разтвори във вода, тя се дисоциира до хидроксониев катион и киселинен анион. Точно тази дисоциация лежи в основата на киселинното мариноване, защото хидроксониевият катион взаимодейства с депротонираната карбоксилна група на аминокиселината в случай на йонната връзка между молекулите, а и също окислява дисулфидния мост между серосъдържащите аминокиселини.

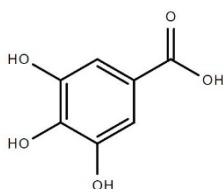
2. Алкални маринати

Този вид мариноване доста се доближава до киселинното, но тук се използва NaHCO_3 . Прибавя се сода за хляб поради нейното рН (~8) и защото не е токсична. Дисоциацията на натриевия хидрогенкарбонат и следващата хидролиза във водната среда също са много важни за денатурацията. Повишаването на рН чрез добавяне на хидрогенсолта превръща протонираната аминогрупа в депротонира-

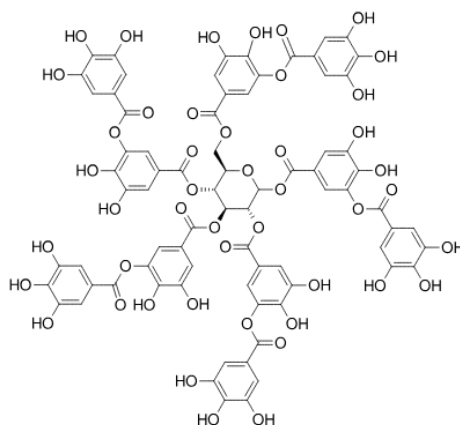
на такава. Също така превръща депротонираната карбоксилна група в COO^-Na^+ и денатурира протеина, като къса йонната връзка между молекулите на протеина.

3. Алкохолни маринати

Алкохолните напитки съдържат етанол и танини (фиг. 2, фиг. 3), които придават цвят на питиетата. Алкохолът и танините денатурират белтъците, като се конкурират за водородни връзки с междумолекулните водородни връзки между аминокиселините.



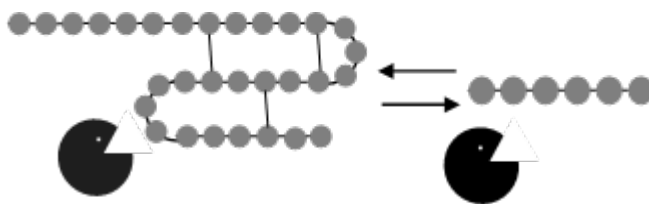
Фигура 2. Галова киселина, която е в основата на танините



Фигура 3. Структура на танин

4. Ензимни маринати

Ензимите са протеини, които действат като биологични катализатори. Те могат да ни помогнат при разкъсване на полипептидната верига или да денатурират протеина (фиг. 4). Те могат да бъдат извлечени от някои сокове на тропични плодове като ананас, папая, киви и смокини (табл. 1). Тези сокове съдържат основно протеазни ензими.



Фигура 4. Ензимно разкъсване на дисулфидни мостове

Таблица 1. Имена на ензимните сокове на тропични плодове

Плод	Ензим
Ананас	Бромелаин
Папая	Папаин
Киви	Актинидин
Смокиня	Фицин

Ензимите са чувствителни към киселинността на средата (pH) и към температура. Имат различна активност при различно pH и различна температура. Например 17 % от ензима бромелаин (извлича се от ананас) се разрушава, ако е поставен за един час при температура 50°C (Jutamongkon & Charoenrein, 2010).

Използвани материали за експеримента

1. Хранителни продукти

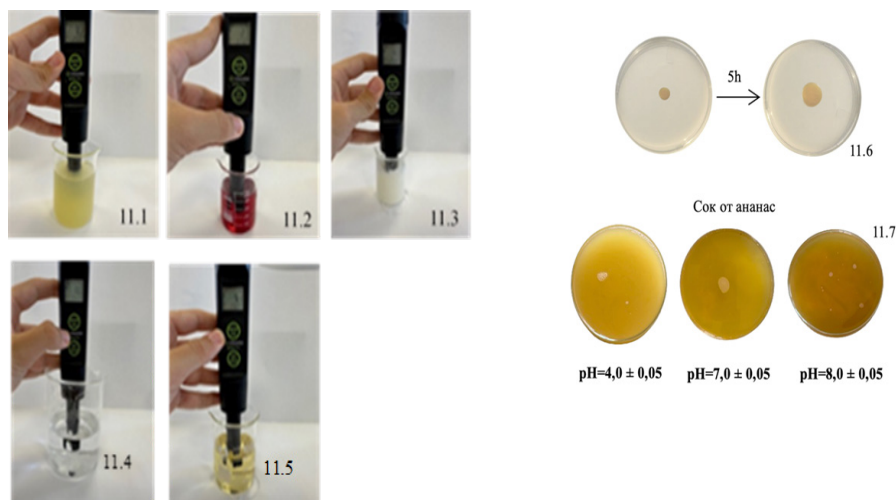
За да може експериментът да ни даде по-обширен поглед върху мариноването, използвахме три вида месо: пилешки гърди, свинска вратна пържола и съомга. Като мариноващи вещества използвахме лимонов сок, 6% разтвор на оцетна киселина (оцет), кисело мляко с 2% масленост, сода за хляб (NaHCO_3), ракия с 40% етилов алкохол и изцеден сок от ананас, папая и смокини.

2. Оборудване: шублер, силомер, тежести по 100 грама, (pH-метър, петри-еви блюда, блендер, тензух, автоматична пипета и скалпел).

Същност на експеримента

За обекти на изследването подбрахме трите най-употребявани вида месо: пилешко, свинско и риба (съомга). Използваните маринати с кисели свойства са лимонена киселина от лимонов сок (фиг. 5.1) с $\text{pH}=2,3\pm0,05$, 6% разтвор на оцетна киселина от оцет (фиг. 5.2) с $\text{pH}=2,7\pm0,05$ и млечна киселина от кисело мляко (фиг. 5.3) с 2% масленост с $\text{pH}=4,3\pm0,05$. Като марината с алкални свойства използвахме 10% разтвор на сода за хляб (фиг. 5.4) (NaHCO_3), а като марината с алкохолни свойства – ракия (фиг. 5.5) с 40% етилов алкохол. Употре-

бихме три сока от плодове (Owens et al., 2001). За да направим самите сокове, блендирахме всеки плод поотделно с дестилирана вода в съотношение 1:10 дестилирана вода : плод и накрая филтрирахме сока през тензук. След това, за да изберем кой сок най-добре денатурира белтъците, направихме „желатинов тест“ (фиг. 5.6). Този тест се състои в това да излеем еднакво количество желатин в петриеве блюда и в средата да направим празнина с диаметър 1 см. В тази празнина трябва да прибавим еднакво количество сок от плодове (1 ml). След това се оставя за 5 часа и после се анализира увеличението на диаметъра на празнината. Известно е, че ензимите имат различна активност при различно рН, затова регулирахме рН на плодовете (фиг. 5.7) с NaHCO_3 . Едното рН е $4 \pm 0,5$, второто е $7 \pm 0,5$ и третото е $\text{pH}=8 \pm 0,5$. Според проведения желатинов тест сокът от ананас денатурира белтъците най-много и затова в изследването се използва само той.



Фигура 5. рН на използваните маринати

Подготовката на месото се изразяваше в нарязването му със скалпел на по 6 парчета. Парчетата се разделят на 2 вида: за тест на дължина и тест на дебелина (ще се разгледат по-късно). Така от всеки вид месо се използват 2 парчета за тест на дължина и едно парче в същата форма, което се използва като контролна проба, която е потопена във физиологичен разтвор, и по 2 парчета за тест на дебелина и едно отново като контролна проба. Размерите на парчетата винаги са с еднакви и от една и съща част на месото. При месото за тест на дължина размерът е 5 cm x 2 cm x 1 cm, а при това за тест на дебелина – 3 cm x 3 cm x 1

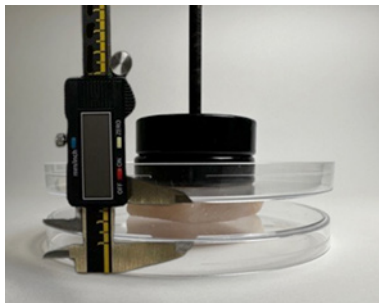
cm. Поради крехкостта на съомгата тестът за дължина не се проведе. След като трите парчета са нарязани равномерно, две от тях се поставят в марината и едно във физиологичен разтвор. Винаги използваме 50 ml марината.

За да се проведе измерване на еластичността, месото се вади от маринатата на 30, 60, 120, 180 минута (за пиле), 240, 300, 360 минута (за свинско), а съомгата се вади на всеки 10 минути до края на изследването – общо 50 минути.

Изследването на еластичността става чрез два теста. Първият тест е за дебелина (фиг. 6). При него се използват парчетата с размер 3cm x 3cm. В този тест се изследва промяната в еластичността върху миофибрилите на мускула. Първоначално се измерва дебелината на месото от контролната проба (~10mm). След това месото се поставя между 2 петрита и отгоре се поставят тежести от 200g, 400g и 500g. Измерва се разстоянието между петритата. Използвахме следната формула, за да определим колко процента е промяната в дебелината:

$$\frac{100 (\text{дебелина (контролна проба)} - \text{дебелина (200g)})}{\text{дебелина (контролна проба)}}$$
$$\frac{100 (\text{дебелина (контролна проба)} - \text{дебелина (200g)})}{\text{дебелина (контролна проба)}}$$

Тук се взема дебелината на контролната проба, защото върху нея не се прилага сила.



Фигура 6. Тест на дебелина



Фигура 7. Тест на дължина

Вторият тест е свързан с дължината на месото (фиг. 7). В него определяме еластичността на месото по неговите миофибрили. За този тест са ни нужни парчетата с размер 5 cm x 2 cm, а и също силомер с разделения от 0 g до 100 g, от които използвахме 20 g, 40 g, 60 g, 80 g, 100 g. Промяната в дължината се измерва с шублер. Първоначално се измерва дължината на контролната про-

ба. Използвахме следната формула, за да измерим колко процента е деформацията в дължината:

$$x = \frac{100 (\text{дължина}_{(60g*)} - \text{дължина}_{(\text{контролна проба})})}{\text{дължина}_{(\text{контролна проба})}}$$

От двете изведени формули трябва да знаем, че колкото е по-голям процентът на промяна в дължината или дебелината, то толкова еластичността на месото е по-голяма.

Хипотеза на изследването

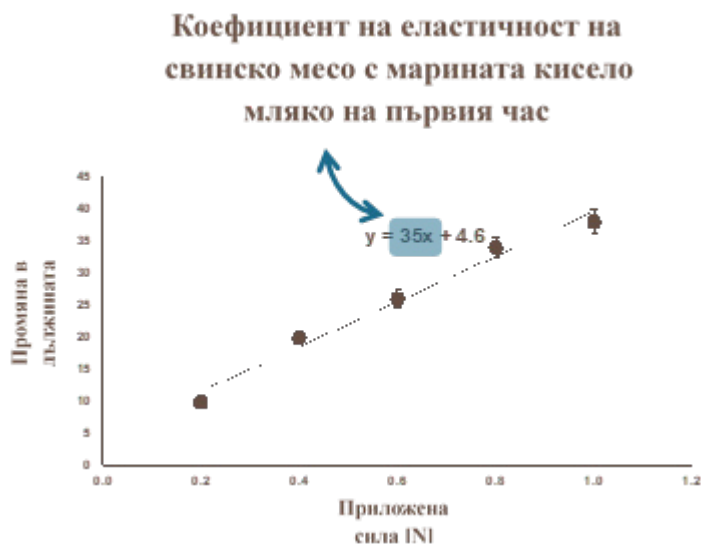
Първата хипотеза е свързана с процесите денатурация и ренатурация. Мариноването води до обратима реакция. Ренатурация е обратният процес на денатурация. В случая на мариноването първоначално се осъществява денатурация, която да води до увеличаване на еластичността. За нея се очаква пиков момент, след който започва ренатурацията, от което следва спад в еластичността

Втората хипотеза е свързана с времето, при което е пиковият момент на еластичността. За рибата би трябвало да е по-малко от 1 час, за пилешкото – по-малко от 4 часа, и за свинско А по-малко от 7 часа. Освен това концентрацията на съединителна тъкан в пилешкото е 2 – 4%, в свинското 5 – 10% и в съомгата 0,5 – 1% (Warris & Brown, 2000).

Третата хипотеза е за връзката между денатурацията и цвета на месото. Червеният цвят на месото се дължи на белтъка миоглобин, съдържащ Fe^{2+} . Когато тази простетична група (хем) се премахне от белтъка от киселини, месото побелява, обаче миоглобинът не може да загуби простетичната си група от сода за хляб, а тя работи като лек оксидиращ агент. Поради факта, че миоглобинът е белтък, който променя цвета си при кисела денатурация, се предполага, че той може да е индикатор за степента на денатурация.

Анализиране на резултатите

Стойностите от формулите за промяната в дължината/дебелината в проценти за всяко едно от времената се поставят по ординатата на графика, а по абсцисата се поставя стойността на приложената сила. От получената графика се взема наклонът на линията на тренда. Този наклон е нашият коефициент на еластичност. При по-голям наклон имаме по-голяма еластичност (фиг. 8).

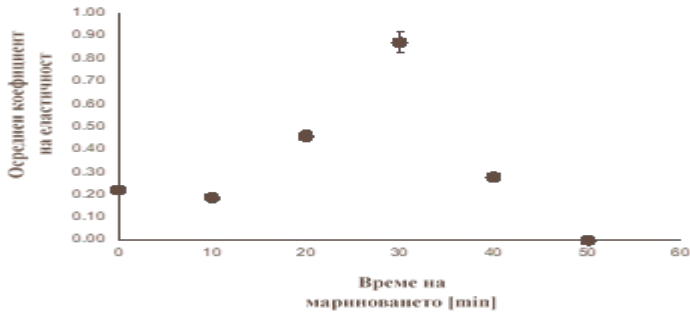


Фигура 8. Коефициент на еластичност на свинско месо с марината кисело мляко на първия час

Както споменахме, се използват по 2 проби. Техният коефициент по едно и също време се различава с максимум 2 единици (при теста на дължина) и 0,015 единици (при теста на дебелина), но все пак осредняваме двете стойности, за да имаме по-обстоен поглед върху резултатите.

Този осреднен коефициент на еластичност след това се поставя върху ординатата на графика за следене на пика на денатурацията, а на абсцисата се поставя времето на Мариноване (фиг. 9).

След това за анализиране на резултатите се взима след колко време е пикът на денатурацията. От този фактор зависи бързината на Мариноването. Второто нещо, което взимаме, е процентът на промяна в еластичността в пиковия момент на денатурацията при теста на дължина и дебелина. От това зависи ефективността на маринатата.



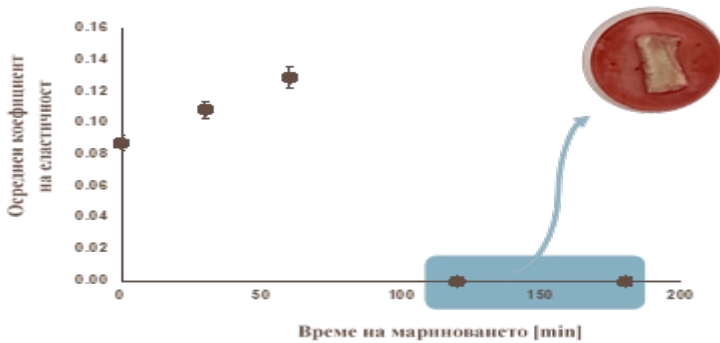
Графика 2: Пик на еластичността на 30 min от мариноването на съомга със сок от ананас [pH=8] Тест на дебелина

Фигура 9. Пик на еластичността на 30 min от мариноването на съомга със сок от ананас [pH=8] Тест на дебелина

Резултати от теста за еластичност

1. Пилешко месо

От всички използвани маринати единствената, която ренатурира месото до степен на пълна невъзможност за деформация при приложена сила, е оцетната киселина (фиг. 10).



Графика 3: Тест на дължина на пилешко с оцет

Фигура 10. Тест на дължина на пилешко с оцет

На табл. 2 са показани резултатите от изследването на ефективността и времеемкостта на 8 вида маринати върху пилешко месо.

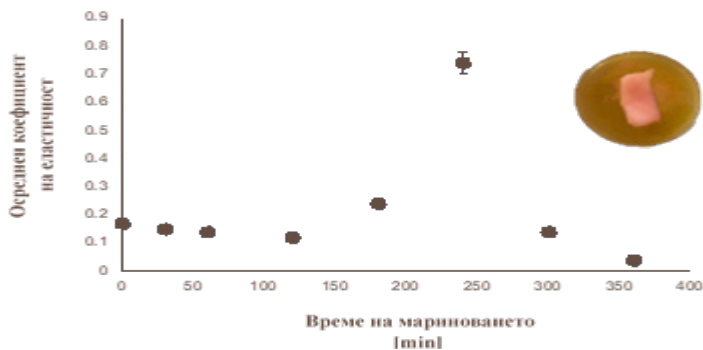
Таблица 2. Резултати пилешко месо*

Марината	Ефективност, %	Времеемкост	[min]
1. лимон сок	52,80	1. сода за хляб	37
2. сода за хляб	52,23	2. оцет	45
3. кисело мляко	51,56	3. ракия	52
4. оцет	49,48	4. ананас, pH = 8	52
5. ракия	46,95	5. кисело мляко	60
6. ананас, pH = 4	37,76	6. ананас, pH = 4	75
7. ананас, pH = 7	36,16	7. лимон сок	82
8. ананас, pH = 8	21,51	8. ананас, pH = 7	105

*В колона времеемкост се показва времето, за което се достига пикът на Мариноването

2. Свинско месо

При всички парчета свинско се забелязва много бърз скок и след това – спад на еластичността. Преходът денатурация – ренатурация е много кратък (фиг. 11).



Графика 4: Тест на дължина на свинско със сок от ананас [pH=8]

Фигура 11. Тест на дължина на свинско със сок от ананас [pH=8]

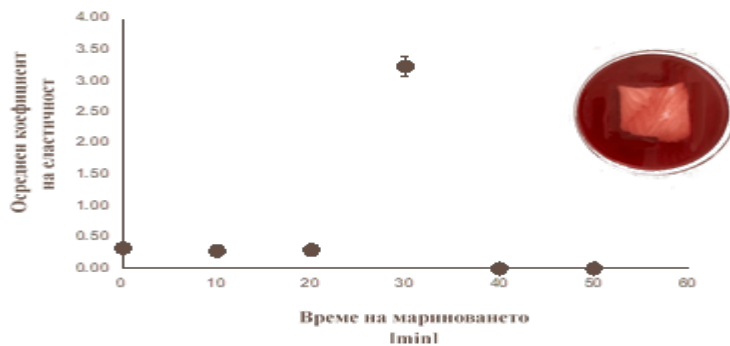
На табл. 3 са резултатите от изследването на ефективността и времеемкостта на 8 вида маринати върху свинско месо.

Таблица 3. Резултати свинско месо

Ефективност		[%]	Времеемкост		[min]
1	Ананас pH=4	33.57	1	Оцет	135
2	Ананас pH=7	32.82	1	Сода за хляб	135
3	Ананас pH=8	32.10	2	Ананас pH=8	150
4	Кисело мляко	27.53	2	Ракия	150
5	Сода за хляб	27.34	3	Кисело мляко	180
6	Ракия	25.06	3	Ананас pH=7	180
7	Лимонов сок	22.57	4	Лимонов сок	225
8	Оцет	9.43	5	Ананас pH=4	255

3. Съомга

При мариноването на съомгата с оцет (фиг. 12), както и при свинското, се забелязва скок в еластичността и отново в края на мариноването еластичността почти се загубва.



Графика 5: Тест на дебелина на съомга с оцет

Фигура 12. Тест на дебелина на съомга с оцет

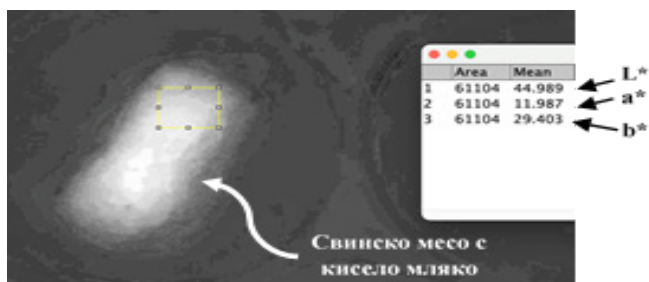
На табл. 4 са резултатите от изследването на ефективността и времеемкостта на 8 вида маринати върху съомга (тест на дължина не можеше да се проведе).

Таблица 4. Резултати съомга

Ефективност		[%]	Времеемкост		[min]
1	Лимон	33.57	1	Лимон	15
2	Ананас pH=4	32.82	1	Ананас pH=4	15
3	Ананас pH=8	32.10	1	Оцет	15
4	Ананас pH=7	27.53	1	Ананас pH=8	15
5	Кисело мляко	27.34	2	Кисело мляко	25
6	Сода за хляб	25.06	3	Ананас pH=7	30
7	Ракия	22.57	3	Ракия	30
8	Оцет	9.43	4	Сода за хляб	35

Тест за промяна в цвета на месото след Мариноване

През цялото време на провеждане на експеримента на месото са правени снимки. Това заснемане винаги ставаше на едно и също място, като нямаше наличие на слънчева светлина в стаята. За теста вземахме първата снимка на трите вида месо в осемте маринати и последната такава. След това двете снимки (началната и крайната на едно и също месо с една и съща марината) се анализираха с програмата ImageJ. Тя ни дава три коефициента. Първият е L^* , който показва осветеността на обекта, вторият коефициент е a^* , който представя стойностите на червения и зеления цвят, и третият е b^* , който показва жълтия и синия цвят (фиг. 13).



Фигура 13. Анализ с програмата ImageJ

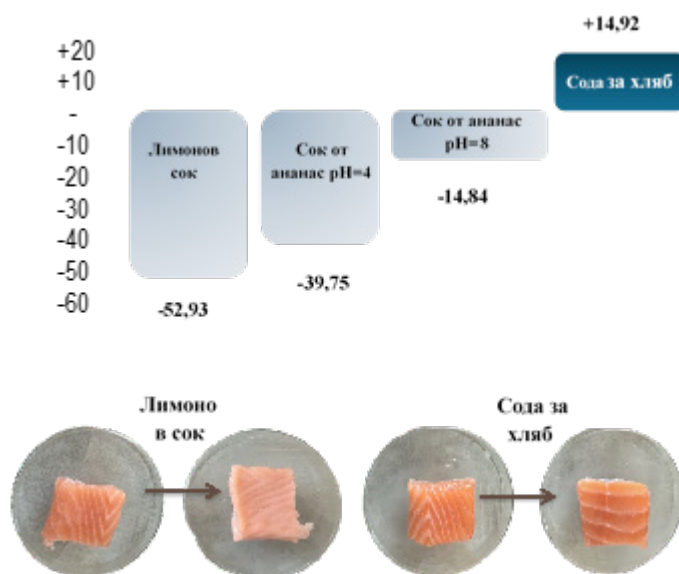
След това тези три индекса се вмъкват във формулата за индекс на покафеняване. Тази формула е точна за маринването, защото стойностите ѝ се измерват в диапазона от -100 до +100 единици. Където стойността на коефициента е -100, цветът е бял, а когато е +100, цветът е кафяв. Средната точка (0) съответства на червено-кафявия цвят. Стойността на индекса на месото от фигура 17 е -30.

$$\text{Индекс на покафеняване} = \frac{100 \left(\frac{a^{*} + 0.75L^{*}}{5.645L^{*} + a^{*} - 3.012b^{*}} - 0.31 \right)}{0.172}$$

Резултати от теста на цвета

От получените резултати, първо, можем да забележим първоначалната разлика в цвета на трите вида месо. Индексът на покафеняване на пилешкото е -16,89, на свинското е +5,78, а на съомгата е +0,23 (фиг. 14).

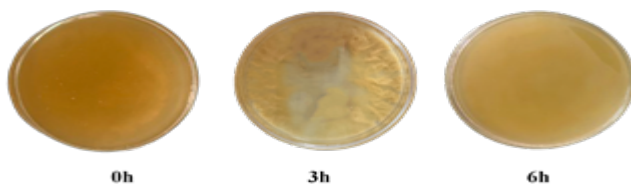
Второто забележимо нещо е, че след киселинно маринване месото побелява и достига стойности до -50,93. След ензимното маринване с pH=4 виждаме същия ефект върху месото, а при ензимното маринване с по-високо pH месото побелява с до 15,07 единици. При ракията имаме почти нулева промяна (стига до +4.34), а при содата за хляб месото покафенява с до +14,92 единици.



Фигура 14. Промяната в цвета на сьомга

Изводи

Първата хипотеза бе потвърдена. Факт е, че денатурацията има пиков момент и след това започва процеса на ренатурация. Това може да се докаже с това, че в пиковия момент на мариноването в петритата имаше много „свободни белтъци“, изглеждащи като утайка, а в края на изследването тази утайка изчезва (фиг. 15).



Фиг. 18: Марината от сок от ананас pH=7 със свинско месо

Фигура 15. Марината от сок от ананас pH=7 със свинско месо

Втората хипотеза също бе потвърдена. Пиковият момент на денатурация на пилешко е средно 63 min, на свинско – 176 min, и за съомгата е 22 min.

Третата хипотеза също бе потвърдена. Месото с кисели и ензимни маринати побелява (фиг. 16), а това със сода бикарбонат например не се променя драстично. От таблицата с резултати за съомга виждаме, че най-ефективните маринати са лимон и сок от ананас с $pH = 4$. Същите две маринати могат да се забележат и на графиката за промяна в цвета. Лимонът променя оттенъка най-много, а след това е сокът от ананас с $pH=4$.



Фигура 16. Промяна в цвета на месото след мариноване

Грешката от уредите при измерване

Грешката се изчислява, като се взема половината от най-малката стойност, която уредът може да измери. Формулата за общата грешка на експеримента е:

Общата грешка на експеримента е 3,74%. Тази стойност е поставени върху всяка графика като отсечка на грешката.

БЕЛЕЖКИ

1. Първа награда в категория „Изследователски проекти“.

REFERENCES

- Judge, M. D., Aberle, E.D., Forrest, J. C., Hedrick, H. B. & Merkel, R. A. (1989). *Principle of Meat Science*. Kendall/Hunt Publishing Co.
- Jutamongkon, R. & Charoenrein, S. (2010). Effect of Temperature on the Stability of Fruit Bromelain from Smooth Cayenne Pineapple. *Kasetsart Journal – Natural Science*, 44(5), 943 – 948.
- Owens, C.M., Alvarado, C. & Sams, A.R. (Eds.). (2001). *Poultry Meat Science*. CRC Press.
- Pearson, A. M. & R. B. Young. (1989). *Muscle and Meat Biochemistry*. Academic Press.

Warris, P. D. & Brown, S. N. (1987). The relationship between initial pH, reflectance and exudation in pig muscle. *Meat Science*, 20(1), 65 – 74.
[https://doi.org/10.1016/0309-1740\(87\)90051-9](https://doi.org/10.1016/0309-1740(87)90051-9).

THE EFFECT OF MARINADES ON MEAT

Abstract. The present project explores the biochemical process of marination. Its aim is to demonstrate the importance of protein denaturation in increasing meat elasticity. Three types of meat are examined in eight different marinades, grouped into four categories: acidic, alkaline, alcohol, and enzymatic. The study observes how marination time and the chemical composition of the marinade affect the elasticity and color of the meat. The best results are achieved when maximum denaturation of the protein elastin occurs. It is found that marination leads to a peak in elasticity, after which renaturation occurs, reducing elasticity. This shows that identifying the marination peak is key to optimal meat tenderization.

Keywords: marination; marinade; denaturation; elasticity; meat color

✉ **Emil Petrov Mirchev, 10th grade**

National High School of Natural Sciences and Mathematics

“Acad. Lyubomir Chakalov”

Sofia, Bulgaria

E-mail: emilmirtchev2008@gmail.com

✉ **Supervisor: Dr. Galya Todorova Petrova**

Teacher

National High School of Natural Sciences and Mathematics

“Acad. Lyubomir Chakalov”

Sofia, Bulgaria

E-mail: galiaty@abv.bg