

Министерство образования и науки Российской Федерации
Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования
«Оренбургский государственный университет»

О.Я. Соколова, Е.Ю. Гальцева

ИЗУЧЕНИЕ МИНЕРАЛЬНОГО СОСТАВА КОСТНОЙ ТКАНИ

Методические указания

Рекомендовано к изданию редакционно – издательским советом федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Оренбургский государственный университет» для обучающихся по образовательной программе высшего образования по направлению подготовки 06.04.01 Биология

Оренбург
2018

УДК 637.1.04 (075.8)
ББК 36.95 – 1я 73
С 59

Рецензент – доцент, кандидат биологических наук А.Н. Сизенцов

Соколова, О.Я.
С59 Изучение минерального состава костной ткани: методические указания / О.Я. Соколова, Гальцева Е.Ю.; Оренбургский гос. ун-т. – Оренбург: ОГУ, 2018.

Методические указания содержат теоретический материал по теме «Строение, состав и свойства костной и хрящевой тканей мяса и жира», методику осуществления лабораторных опытов, вопросы к защите лабораторной работы охватывающий основной раздел курса в соответствии с требованиями рабочей программы

Методические указания предназначены для обучающихся по направлению подготовки 06.04.01 Биология, магистерской программы «Биохимия и молекулярная биология», а также методические указания являются вспомогательным материалом для учебно - исследовательской работы студентов.

УДК 637.1.04 (075.8)
ББК 36.95 – 1я 73

© Соколова О.Я, 2018
© ОГУ, 2018

Содержание

Введение.....	4
1 Строение, состав и свойства костной и хрящевой тканей мяса и жира	5
1.1 Строение костной ткани и кости	5
1.2 Химический состав и свойства костной ткани и кости.....	6
1.3 Пищевая и промышленная ценность кости.....	8
1.4 Особенности строения, состава и свойств хрящевой ткани	9
2 Лабораторная работа. Изучение минерального состава костной ткани	10
2.1 Извлечение минеральных веществ из костной ткани	12
2.2 Реакция на кальций	13
2.3 Реакция на магний.....	13
2.4 Реакция на фосфорную кислоту	13
Список использованных источников	15

Введение

Интерес к биохимии как к науке во всем мире указывает на возрастающее значение биохимии для человеческого общества.

Потребности народного хозяйства в продукции, хранении и обработке различных видов сырья привели к развитию технической и промышленной биохимии, в частности биохимии пищевого производства.

Наряду с этим, при изучении биохимии пищевого производства используют достижения смежных наук, таких как органическая, физическая и коллоидная химия, физиология, животноводство, биотехнология, биохимия питания и др.

В связи с этим процесс обучения студента - биохимика включает знания основных процессов, происходящих в сырье и продуктах под действием биохимических, микробиологических, технологических факторов, состава и свойств соединительной ткани мяса, понятия автолиза и изменений органолептических и технологических свойств мяса в ходе автолиза, а также знания о тепловой обработке мяса и мясопродуктов.

Настоящее методическое указание представляет собой информативное руководство, предназначенное для преподавания дисциплин: «Ветеринарная биохимия», «Биохимия пищеварения и питания», «Биохимия сельскохозяйственных животных», «Биохимические методы исследования в ветеринарии». С помощью данного методического указания студенты научатся применять теоретические знания для определения качества пищевой продукции, а также закрепить знания о биохимическом составе сырья.

Методическое указание содержит теоретический материал по теме «Строение, состав и свойства костной и хрящевой тканей мяса и жира», методику осуществления лабораторных опытов, вопросы к защите лабораторной работы, а также перечень рекомендуемой для изучения дисциплины литературы. В работе изложена цель, задачи, краткие теоретические положения, а также ход выполнения работы.

1 Строение, состав и свойства костной и хрящевой тканей мяса и жира

1.1 Строение костной ткани и кости

По морфологическому составу *костная ткань* является одной из разновидностей соединительной ткани, причем наиболее сложной из них. Костная ткань отличается сильно развитым межклеточным (основным) веществом, в состав которого входит органическая часть, пропитанная минеральными солями, что определяет высокую плотность и твердость костной ткани. В основном веществе расположены костные клетки - остециты, коллагеновые волокна, проходят кровеносные сосуды [6].

Костная ткань наряду с *надкостницей* и *костным мозгом* входит в состав костей скелета сельскохозяйственных животных, птицы, и выполняет основную опорную функцию в организме.

В зависимости от формы, обусловленной выполняемой функцией, различают следующие группы костей: **длинная (трубчатая) кость** имеет удлиненную, цилиндрической или трехгранной формы среднюю часть — тело кости, диафиз. Утолщенные концы ее называют эпифизами. Каждый эпифиз имеет суставную поверхность, покрытую суставным хрящом, которая служит для соединения с соседними костями. Трубчатые кости составляют скелет конечностей, выполняют функции рычагов. Выделяют кости длинные (плечевая, бедренная, кости предплечья и голени) и короткие (пястные, плюсневые, фаланги пальцев). **Короткая (губчатая) кость** имеет форму неправильного куба или многогранника. Такие кости расположены в определенных участках скелета, где прочность их сочетается с подвижностью: в соединениях между костями (запястья, предплюсны). **Плоские (широкие) кости** участвуют в образовании полостей тела и выполняют также защитную функцию (кости свода черепа, тазовые кости, грудина, ребра). Одновременно они представляют собой обширные поверхности для прикрепления мышц, а

также, наряду с трубчатыми костями, являются вместилищами костного мозга.

Смешанные (ненормальные) кости отличаются сложным строением и разнообразной формой. Например, тело позвонка относится к губчатым костям, а его дуга, отростки — к плоским.

Воздухоносные кости имеют в теле полость, выстланную слизистой оболочкой и заполненную воздухом. К ним относятся некоторые кости черепа: лобная, клиновидная, решетчатая, верхняя челюсть.

1.2 Химический состав и свойства костной ткани и кости

В костной ткани содержится 20 % - 25 % воды, 75 % - 80 % сухого остатка, в том числе 30 % белков и 45 % неорганических соединений. Основным белком костной ткани - коллаген - составляет около 93 % всех белков ткани и входит в структуру *оссеина*.

При обработке костной ткани кислотами происходит так называемая *мацерация* (размягчение) за счет растворения минеральных веществ, оставшееся мягкая, эластичная органическая часть называется оссеином [2].

Минеральные вещества костной ткани составляют около 1/2 массы или 1/4 объема ткани.

После прокалывания в кости остаются только минеральные вещества. Кость сохраняет свою форму, но лишенная органических веществ, становится хрупкой, растирается в порошок. Минеральные вещества костной ткани представлены, главным образом, кальциевыми солями угольной (около 85 %) и фосфорной (около 10 %) кислот [15].

Основой костного мозга является сетчатая (ретикулярная) ткань, в петлях которой расположены клеточные элементы - кровяные, жировые клетки.

При небольшом количестве жировых клеток костный мозг окрашен в красный цвет, а при их большом содержании он приобретает желтый оттенок.

Таблица 1.1 - Химический состав костного мозга

Состав, %	Красный костный мозг	Желтый костный мозг
Вода	67,4	14,7
Липиды	17,9	98,5
Белки	11,6	1,5
Минеральные вещества	3,0	0,17

Более 90 % массовой доли липидов костного мозга приходится на жиры. В составе жиров преобладает олеиновая, стеариновая и пальмитиновая кислоты [7].

Химический состав кости зависит от многих факторов: вида скота, его упитанности, пола, возраста, анатомического происхождения кости.

Таблица 1.2 - Химический состав говяжьей кости

Вид кости	Массовая доля, %			
	влаги	жира	белка	зола
Трубчатая	15-23	13-24	17-23	40-50
Кулаки	17-32	18-33	14-21	28-36
Позвонки	30-41	13-20	14-23	20-30
Ребра	28-31	10-11	19-22	36-40

Из таблицы 1.2 видно, что химический состав кости существенно зависит от ее строения. В трубчатой и рядовой кости больше жира, чем в пас-

портной. Это связано с наличием в трубке желтого костного мозга и более развитым губчатым слоем, пропитанным красным мозгом, у рядовой кости.

Более высоким содержанием белка и минеральных веществ отличаются кости, в костной ткани которых преобладает плотное вещество, более богатое коллагеном, чем губчатое. Это трубчатая и паспортная кости [18].

1.3 Пищевая и промышленная ценность кости

Химический состав и свойства кости определяют ее пищевое и промышленное значения.

Пищевая ценность кости определяется наличием в ней жира и белка. При этом основной белок кости - коллаген является неполноценным белком. Пищевая ценность кости значительно ниже, поэтому увеличение количества в составе мяса ее относительного содержания ухудшает качество мяса.

Большая часть жира может быть выделена из кости путем варки ее в воде или другим способом. Коллаген кости также может быть извлечен горячей водой в виде продуктов его гидротермического распада - желатинов и желатоз [3].

Для пищевых целей кость используется:

- 1) как составная часть мяса мясных полуфабрикатов;
- 2) для производства пищевого топленого костного жира (трубчатая, рядовая)
- 3) производства пищевого желатина (паспортная, трубчатая);
- 4) получения пищевых бульонов.

Перспективным направлением использования кости на пищевые цели следует признать получение мясной пасты, которая может применяться для изготовления мясопродуктов. Пищевая ценность такой пасты определяется наличием большого количества минеральных веществ, прежде всего кальция, в биологически доступной форме, что важно при производстве лечебно - про-

филактических мясных продуктов. Для получения подобных паст необходимо обеспечить тонкое измельчение кости [1,4].

Диафиз трубчатой кости является прекрасным сырьем для поделочных изделий. Из кости производят также технический желатин, клей, кормовую муку.

Выход кости, получаемой при переработке мясных туш, зависит от вида, породы, пола, возраста, упитанности животного [16].

1.4 Особенности строения, состава и свойств хрящевой ткани

Хрящевая ткань является одним из компонентов скелета. Она состоит из сильно развитого межклеточного (основного) плотного вещества, в котором встречаются клетки, волокна, капельки жира и глыбки гликогена.

В зависимости от выполняемых прижизненных функций хрящи имеют различное строение. Различают хрящи *гиалиновый* (стекловидный), *волокнистый* (соединительнотканый) и *эластический* [19].

В составе эластического хряща (ушная раковина) много эластиновых волокон, а в волокнистом хряще (встречается в месте перехода сухожилий в гиалиновый хрящ) содержатся пучки коллагеновых волокон.

В хрящевой ткани воды больше, а минеральных веществ меньше, чем в костной ткани, что видно из приведенных ниже данных.

- 1) вода (40 % - 70 %);
- 2) минеральные вещества (2 % - 10 %);
- 3) белки (17 % - 20 %);
- 4) жиры (3 % - 5 %);
- 5) гликоген и мукополисахариды (1 %).

Пищевая ценность хрящевой ткани определяется, прежде всего, содержанием белка (коллаген, эластин, и др.). Находясь в составе мяса, хрящевая ткань снижает его пищевую ценность.

Высокое содержание в хрящевой ткани мукополисахаридов и мукопротеидов не позволяет получать из нее желатин и клей высокого качества [12].

2 Лабораторная работа. Изучение минерального состава костной ткани

Цель: изучить минеральный состав костной ткани.

Задачи:

- 1) освоить извлечение минеральных веществ из костной ткани;
- 2) изучить реакцию на кальций;
- 3) изучить реакцию на фосфорную кислоту;
- 4) освоить метод получения желатина из оссеина.

По морфологическому составу костная ткань является одной из разновидностей соединительной ткани, причем наиболее сложной из них.

В костной ткани содержится 20 % – 25 % воды, 75 % – 80 % сухого остатка, в том числе 30 % белков и 45 % неорганических соединений. Основным белком костной ткани – коллаген, он составляет около 93 % всех белков ткани и входит в структуру оссеина. Пищевая ценность кости определяется наличием в ней жира и белка [5].

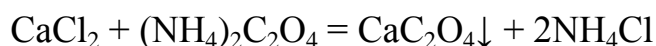
Минеральная часть кости состоит главным образом из фосфата кальция, значительного количества карбоната кальция, небольшого количества фосфата магния, фторида кальция и хлорида кальция, а также железа, натрия и калия. Содержание минеральных веществ в костной ткани колеблется от 48 % до 74 %.

Удаление минеральной части из костей достигается мацерацией (от латинского *maceratio* – размягчение), заключающейся в обработке кости раствором соляной кислоты. Можно применять и другие кислоты, образующие с кальцием растворимые соли [17].

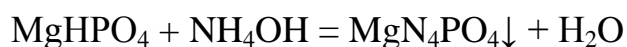
В солянокислой вытяжке, полученной при мацерации кости, содержится кальций, магний, железо, фосфорная кислота, калий, натрий, фтор. Больше

всего содержится кальция и фосфорной кислоты; значительно меньше магния, и еще меньше железа.

Методы определения калия, натрия и фтора, присутствующих в очень небольших количествах, сложны. Определение кальция основано на нерастворимости оксалата кальция, образующегося при воздействии на растворимые соли кальция оксалатом аммония [14]:



Реакцию на магний проводят после удаления из вытяжки ионов кальция. Определение магния основано на образовании двойной фосфорноаммонийной магниевой соли. Так как магний в костной ткани главным образом связан с фосфорной кислотой, достаточно добавить только гидроксид аммония:



В фильтрате после удаления кальция и магния определяют оставшуюся фосфорную кислоту.

Для этого к фильтрату добавляют магниезильную смесь ($\text{NH}_4\text{Cl} + \text{MgCl}_2 + \text{NH}_4\text{OH}$). Выпадает осадок фосфата магния-аммония. Наличие фосфорной кислоты в полученном осадке проверяют молибденовокислым аммонием. В случае присутствия фосфорной кислоты выделяется желтый осадок фосфорномолибденовокислого аммония [8].

Оставшаяся после мацерации под действием соляной кислоты часть кости представлена в основном белками. На долю костного коллагена (оссеина) приходится 93 % от общего количества белков кости. При варке оссеина в зависимости от предварительной обработки и условий варки образуется желатин или клей [20].

Химический состав кости зависит от многих факторов: вида скота, его упитанности, пола, возраста, анатомического происхождения кости. В таблице 1.3 представлен химический состав говяжьей кости. Из этой таблицы видно, как зависит химический состав кости от ее строения.

Основой костного мозга является сетчатая (ретикулярная) ткань, в петлях которой расположены клеточные элементы – кровяные, жировые клетки.

При нормальном количестве жировых клеток костный мозг окрашен в красный цвет, а при избытке адипоцитов (жировые клетки) он приобретает желтый оттенок [10].

Таблица 1.3 – Химический состав говяжьей кости

Вид кости	Массовая доля, %			
	влаги	жира	белка	зола
Трубчатая	15-23	13-24	17-23	40-50
Кулаки	17-32	18-33	14-21	28-36
Позвонки	30-41	13-20	14-23	20-30
Ребра	28-31	10-11	19-22	36-40

2.1 Извлечение минеральных веществ из костной ткани

Посуда и реактивы: химические стаканы; соляная кислота; кости.

Методика выполнения. Кости залить раствором соляной кислоты и оставить на сутки и более. Солянокислую вытяжку, содержащую минеральные соли, слить в другой стакан, оставшуюся органическую часть кости (оссеин) залить водой.

Солянокислую вытяжку использовать для следующих опытов.

2.2 Реакция на кальций

Посуда и реактивы: пробирка; 5 мл солянокислой вытяжки; 2 – 3 мл раствора оксалата аммония.

Методика выполнения. Налить в пробирку 5 мл солянокислой вытяжки, прилить 2 – 3 мл раствора оксалата аммония, встряхнуть, наблюдать образование белого осадка.

2.3 Реакция на магний

Посуда и реактивы: фильтрат со второго опыта (п. 2.2); 3 мл раствора гидроксида аммония.

Методика выполнения. Полученный в опыте 2 раствор с осадком оксалата кальция профильтровать. К фильтрату прибавить несколько капель раствора гидроксида аммония.

Наблюдать образование осадка фосфата магния-аммония.

2.4 Реакция на фосфорную кислоту

Посуда и реактивы: фарфоровая чашечка; водяная баня; пробирка; фильтрат с третьего опыта (п. 2.3); магниезиальная смесь; азотная кислота; 3 мл молибдата аммония.

Методика выполнения. Полученный в опыте 3 раствор с осадком фосфата магния-аммония профильтровать. К фильтрату добавить магниезиальную смесь до выпадения осадка. Полученный осадок отфильтровать и перенести в фарфоровую чашечку. Растворить осадок в минимальном количестве азотной кислоты, добавить 3 мл молибдата аммония, слегка нагреть на водяной бане. Затем охладить и наблюдать образование желтого осадка.

2.5 Получение желатина из оссеина

Посуда и реактивы: термостойкий стакан; водяная баня; кость; желатин.

Методика выполнения. Органическую часть кости вынуть из воды, измельчить, тщательно промыть водой. Затем поместить в термостойкий стакан и кипятить с водой 10 – 15 минут.

С полученным раствором желатина проделать цветные реакции на желатин.

Порядок оформления работы

1. Ознакомиться с материалом и сделать конспект.
2. Оформить результаты.
3. Сделать вывод.

Контрольные вопросы

1. Охарактеризовать извлечение минеральных веществ из костной ткани.
2. На чем основана реакция на кальций и на фосфорную кислоту
3. Дать характеристику методу получения желатина из оссеина.

Список использованных источников

1 Андреев, Г.И. Основы научной работы и оформление результатов научной деятельности: учебное пособие / Г.И. Андреев, С.А. Смирнов, В.А. Тихомиров. – М.: Финансы и статистика, 2003.

2 Барышева, Е. С. Биохимия крови [Электронный ресурс]: лабораторный практикум: учебное пособие для студентов, обучающихся по программам высшего профессионального образования по направлению подготовки 020400 Биология / Е. С. Барышева, К. М. Бурова; М-во образования и науки Рос. Федерации, Федер. гос. бюджет. образоват. учреждение высш. проф. образования "Оренбург. гос. ун-т". - Электрон. текстовые дан. (1 файл: 11250 Kb). - Оренбург: ОГУ, 2014. –AdobeAcrobatReader 6.0 - ISBN 978-5-7410-1185-0. Издание на др. носителе [Текст]. - № гос. регистрации 0321400106.

3 Барышева, Е. С. Практические основы биохимии [Электронный ресурс]: учеб. пособие / Е. С. Барышева, О. В. Баранова, Т. В. Гамбург; М-во образования и науки Рос. Федерации, Федер. гос. бюджет. образоват. учреждение высш. проф. образования "Оренбург. гос. ун-т". - Электрон. текстовые дан. (1 файл: Kb). - Оренбург: ОГУ, 2011. -AdobeAcrobatReader 5.0 Издание на др. носителе [Текст]. - № гос. регистрации 0321103142.

4 Барышева, Е. С. Теоретические основы биохимии [Электронный ресурс]: учеб. пособие / Е. С. Барышева, О. В. Баранова, Т. В. Гамбург; М-во образования и науки Рос. Федерации, Гос. образоват. учреждение высш. проф. образования "Оренбург.гос. ун-т". - Электрон. текстовые дан. (1 файл: Kb). - Оренбург: ГОУ ОГУ, 2011. -AdobeAcrobatReader 5.0 Издание на др. носителе [Текст]. - № гос. регистрации 0321102524.

5 Владимирова, Е. Г. Техническая биохимия [Электронный ресурс]: метод. указания к лаб.практикуму / Е. Г. Владимирова, Е. В. Бибарцева, О. П. Кушнарцева; М-во образования и науки Рос. Федерации, Федер. гос. бюджет. образоват. учреждение высш. проф. образования "Оренбург. гос. ун-т", Каф.

профилактик. медицины. - Электрон. текстовые дан. (1 файл: Kb). - Оренбург: ОГУ, 2013. -AdobeAcrobatReader 6.016

6 Дудко, А. В. Биохимия [Электронный ресурс]: электронное гиперссылочное учебное пособие / А. В. Дудко, А. Д. Стрекаловская, Е. С. Хайруллина; М-во образования и науки Рос. Федерации, Федер. гос. бюджет. образоват. учреждение высш. проф. образования "Оренбург. гос. ун-т". - Электрон. текстовые дан. (1 файл: 245 Mb). - Оренбург: ОГУ, 2015. -Архиватор 7-Zip

7 Коваленко, Л.В. Биохимические основы химии биологически активных веществ: [Электронный ресурс]: учебное пособие / Л.В. Коваленко. - 2-е изд. (эл.). - М.: БИНОМ. Лаборатория знаний,2012. - 229 с. - (Учебник для высшей школы). - ISBN 978-5-9963-1100-2.

8 Ларичев, Т.А. Основы химии элементов [Электронный ресурс]: учебное пособие / Т.А. Ларичев, Т.Ю. Кожухова. - Кемерово: Кемеровский государственный университет, 2012. - 147 с. - ISBN978-5-8353-1515-4: - Режим доступа: http://biblioclub.ru/index.php?page=book_view_red&book_id=232759

9 Плакунов, В.К. Основы динамической биохимии [Электронный ресурс]: учебное пособие / В.К. Плакунов, Ю.А. Николаев. - Электрон. текстовые дан. - Логос, 2010.

10 Рогожин, В. В. Практикум по биологической химии: учеб. -метод. пособие / В. В. Рогожин. - СПб.: Лань, 2006. - 256 с.: ил. - Библиогр. в конце гл. - ISBN 5-8114-0679-7.

11 Соколова, О. Я. Биохимические основы биологических процессов [Электронный ресурс]: лабораторный практикум: учебное пособие для студентов, обучающихся по программам высшего профессионального образования по направлению подготовки 020400.62 Биология, профиль подготовки "Биохимия" / О. Я. Соколова, Е. В. Бибарцева, О. А. Науменко; М-во образования и науки Рос. Федерации, Федер. гос. бюджет. образоват. учреждение высш. проф. образования "Оренбург. гос. ун-т". - Электрон. текстовые дан. (1 файл: 11315 Kb). - Оренбург: ОГУ, 2014. -AdobeAcrobatReader 6.0 -ISBN 978-

5-7410-1267-3.

12 Соколова, О. Я. Введение в специальность [Электронный ресурс]: электронный курс лекций / О. Я. Соколова, Е. В. Бибарцева, М. В. Фомина; М-во образования и науки Рос. Федерации, Федер. гос. бюджет.образоват. учреждение высш. проф. образования "Оренбург. гос. ун-т". - Электрон. текстовые дан. (1 файл: 17.7 Mb). - Оренбург: ОГУ, 2014. -Архиватор 7-Zip

13 Соколова, О. Я. Биохимия крови [Электронный ресурс]: электронный курс лекций / О. Я.Соколова, Е. С. Барышева, Е. В. Бибарцева; М-во образования и науки Рос. Федерации, Федер. гос. бюджет. образоват. учреждение высш. проф. образования "Оренбург. гос. ун-т". - Электрон. текстовые дан. (1 файл: 1 Mb). - Оренбург: ОГУ, 2014. -Архиватор 7-Zip

14 Соколова, О. Я. Биохимия биотехнологических процессов [Электронный ресурс]: электронный курс лекций / О. Я. Соколова, Е. С. Барышева, Е. В. Бибарцева; М-во образования и науки Рос. Федерации, Федер. гос. бюджет. образоват. учреждение высш. проф. образования "Оренбург. гос. ун-т". - Электрон. текстовые дан. (1 файл: 19.1 Mb). - Оренбург: ОГУ, 2015. - Архиватор 7- Zip

15 Фомина, М. В. Фармацевтическая биохимия [Электронный ресурс]: учебно-методическое пособие для студентов, обучающихся по программам высшего образования по направлению подготовки 06.03.01 Биология / М. В. Фомина, Е. В. Бибарцева, О. Я. Соколова; М-во образования и науки Рос. Федерации, Федер. гос. бюджет. образоват. учреждение высш. проф. образования "Оренбург. гос. ун-т". - Электрон. текстовые дан. (1 файл: Kb). - Оренбург: ОГУ, 2015. -AdobeAcrobatReader 6.0

16 Шамраев, А. В. Биохимия [Электронный ресурс]: учебное пособие для студентов, обучающихся по программам высшего профессионального образования по направлению подготовки 020400.62 Биология / А. В. Шамраев; М-во образования и науки Рос. Федерации, Федер. гос. бюджет. образоват. учреждение высш. проф. образования "Оренбург. гос. ун-т". - Электрон. текстовые дан. (1 файл: Kb). - Оренбург: ОГУ, 2014. -AdobeAcrobatReader 6.0