

597.98

Т-78

ВСЕСОЮЗНЫЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ
МОРСКОГО РЫБНОГО ХОЗЯЙСТВА И ОКЕАНОГРАФИИ (ВНИРО)
КРАСНОДАРСКИЙ СОВНАРХОЗ, ЦБТИ

ТРУДЫ

ТОМ XXXVII

ТЕХНОЛОГИЯ РЫБНЫХ ПРОДУКТОВ

А. П. МАКАШЕВ

*ПРИМЕНЕНИЕ УГЛЕКИСЛОТЫ
ПРИ ХРАНЕНИИ РЫБЫ*

ПИЩЕПРОМИЗДАТ

597.98
71-78

ВСЕСОЮЗНЫЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ
МОРСКОГО РЫБНОГО ХОЗЯЙСТВА И ОКЕАНОГРАФИИ (ВНИРО)
КРАСНОДАРСКИЙ СОВНАРХОЗ, ЦБТИ

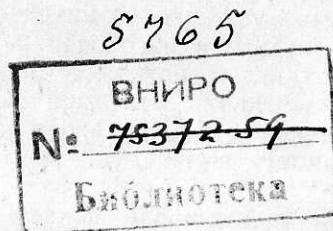
ТРУДЫ

ТОМ XXXVII

ТЕХНОЛОГИЯ
РЫБНЫХ ПРОДУКТОВ

А. П. МАКАШЕВ

ПРИМЕНЕНИЕ УГЛЕКИСЛОТЫ
ПРИ ХРАНЕНИИ РЫБЫ



ПИЩЕПРОМИЗДАТ
Москва • 1959

ВВЕДЕНИЕ

В перспективном плане развития народного хозяйства СССР предусматривается дальнейшее резкое увеличение производства высококачественных пищевых и, в частности, рыбных продуктов на базе мощного подъема социалистической промышленности и сельского хозяйства и внедрения новой техники.

Как свежая (охлажденная) рыба, так и высококачественные рыбные продукты — копченая (в особенности горячего копчения), вяленая, сушеная рыба, балыки, кулинарные изделия, слабо- и среднесоленые рыбопродукты — нестойки в хранении.

По нормам Главной государственной санитарной инспекции допустимые сроки хранения рыбы вареной, жареной или обработанной горячим копчением при комнатной температуре ограничиваются несколькими часами. Рыба холодного копчения, вяленая, хотя и более стойка в хранении, однако относительно быстро подвергается плесневению, а жир ее окисляется.

Следовательно, увеличение выработки высококачественных рыбных продуктов неразрывно связано с разработкой и внедрением новых методов консервирования, позволяющих сохранять качество продукции при хранении и перевозках с мест производства на базисные склады, а затем в торговую сеть.

Холодильная техника достигла высокого уровня развития. Однако даже при современном развитии ее еще нет возможности обеспечить замораживание, хранение и перевозки в мороженом виде всей огромной массы скоропортящихся продуктов, а главное, не все скоропортящиеся, в частности рыбные продукты, желательны замораживать, так как при замораживании и последующем хранении и размораживании могут происходить некоторые изменения, снижающие качество продуктов.

Известно, что качество свежей охлажденной рыбы выше, чем мороженой. Ткань рыбы горячего копчения (особенно средних и крупных размеров) после замораживания и последующей дефростации теряет нежность.

В рыбообрабатывающей промышленности неизвестны пока еще средства для ускорения созревания слабо- и среднесоленой рыбы и процесс этот (например, для пресервов) при температуре 0° длится не менее двух месяцев. Для созревания рыбной продукции нужны холодные склады, поэтому увеличение выработки ее часто тормозится недостатком холодильной емкости.

Изучение свойств углекислого газа, проведенное многими исследователями, показывает, что при хранении скоропортящихся продуктов в атмосфере углекислого газа может быть достигнуто значительное удлинение сроков их сохранности.

Имеется немало работ по применению углекислого газа для сохранения скоропортящихся пищевых продуктов. Однако до настоящего времени не освещен еще ряд вопросов физико-химии, биохимии и микробиологии углекислотного хранения. Совершенно нет данных о физико-химических и биохимических изменениях, происходящих в мышечной ткани рыбы под влиянием углекислого газа. Не разработаны режимы хранения и техника применения углекислого газа.

Проблема использования углекислого газа для сохранения рыбных продуктов сложна. Она включает необходимость изучения не только консервирующего действия углекислого газа, но и тормозящего влияния газа на окислительные процессы и, наконец, действия углекислоты на активность протеолитических ферментов, имеющихся в свежей рыбе и в некоторых рыбных продуктах. Проблема углекислотного хранения включает также необходимость разработки техники применения углекислоты как в газообразном, так и в твердом виде.

Учитывая вышеизложенное, мы поставили перед собой следующие основные задачи:

1) изучение абсорбции углекислого газа рыбой и рыбными продуктами и влияния углекислоты на основные физико-химические и биохимические свойства мышечной ткани рыбы;

2) определение необходимых с технологической точки зрения условий (концентрации и давления углекислого газа, температуры), обеспечивающих максимальный консервирующий эффект углекислотной среды на различные рыбопродукты, в которых вегетирует смешанная как аэробная, так и анаэробная микрофлора;

3) выяснение закономерностей, определяющих газовое состояние углекислотно-воздушной среды и продукта, заключенных в герметично закрытый контейнер; разработку техники применения углекислого газа и некоторых образцов тары для углекислотного хранения рыбопродуктов, выяснение перспектив использования сухого льда;

4) изучение и уточнение действия углекислотно-воздушной среды при разной температуре на сохраняемость и технологические качества различной рыбной продукции (свежей, копченой и соленой рыбы).

Все эти задачи связаны между собой единством цели — получить максимально исчерпывающую характеристику свойств нового для рыбообрабатывающей промышленности консерванта и разработать теоретические предпосылки для применения его на практике.

Для разрешения вышеуказанных и других, связанных с углекислотным хранением, вопросов мы в течение нескольких лет проводили экспериментальные работы, которые в основном дополняют и расширяют работы, начатые в этой области отечественными исследователями.

В исследованиях принимали активное участие сотрудники технологической лаборатории Доно-Кубанского отделения АзчерНИРО, в микробиологических работах — ст. лаборант А. Я. Алдакимова, в физико-химических и биохимических — мл. научный сотрудник А. И. Минкина и ст. лаборант Е. В. Соколова, которым автор выражает искреннюю признательность.

Автор выражает также искреннюю благодарность проф. В. С. Загорянскому, проф. С. И. Кузнецову, проф. Н. А. Головкину, проф. Д. А. Христуло и доц. В. А. Кузнецову за ряд ценных советов.

Непосредственное участие в промышленной проверке способа углекислотного хранения принимали работники Ростовского, Одесского, Адлерского, Керченского, Таганрогского и Махачкалинского рыбозаводов.

ВЛИЯНИЕ УГЛЕКИСЛОГО ГАЗА НА НЕКОТОРЫЕ ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ И БИОХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА МЫШЕЧНОЙ ТКАНИ РЫБЫ

Основоположниками метода углекислотного хранения скоропортящихся продуктов являются советские ученые, начавшие теоретическую и экспериментальную разработку проблемы (проф. Я. Я. Никитинский и его школа: проф. В. С. Загорянский, проф. Ф. М. Чистяков, проф. Б. С. Алеев и другие) и впервые показавшие, что углекислый газ является мощным фактором, способствующим сохранению плодов, овощей, мясных и рыбных продуктов.

Первые работы Я. Я. Никитинского и В. С. Загорянского по хранению плодов и овощей в углекислом газе относятся к 1913 г.

Исследованиями Я. Я. Никитинского [132, 133, 134, 135], В. С. Загорянского [57, 58, 59], Ф. М. Чистякова [192], Б. С. Алеева [2, 3, 4] и других ученых выявлено тормозящее влияние углекислого газа на развитие плесеней и бактерий, в том числе и патогенных из группы салмонеллы, а также отмечено некоторое угнетающее действие углекислого газа на развитие бактерий ботулизма.

М. Заболотский [61] доказал эффективность применения углекислого газа при хранении зерна.

В опытах советских ученых выявлено, что хранение различных скоропортящихся продуктов в атмосфере, обогащенной углекислым газом, повышает их сохраняемость в несколько раз сравнительно с хранением в обычных условиях. Хорошо сохраняются в углекислом газе овощи, фрукты, зерно, вареные и жареные мясные и рыбные продукты [18, 83, 146].

Таким образом, работами советских ученых намечены пути применения углекислого газа для хранения разнообразных пищевых продуктов.

В Англии углубленное изучение проблемы углекислотного хранения началось в тридцатых годах [204, 205, 219, 243, 244, 245, 260, 269, 270]. В США разработкой углекислотного хранения занялись еще позднее [196, 267, 268, 273].

За границей углекислотное хранение имеет практическое применение при перевозках охлажденного мяса, при хранении охлажденных яиц и фруктов [6].

Для решения проблемы углекислотного хранения скоропортящихся пищевых продуктов имеет значение знание механизма угнетающего действия углекислого газа на микроорганизмы.

В опытах Я. Я. Никитинского [134] обнаружено, что углекислый газ тормозит развитие бактерий в воде, но при замене углекислого газа водородом размножение бактерий в воде происходит нормально.

В. С. Загорянский нашел, что в углекислотно-воздушной среде при концентрации углекислого газа более 20% жизнедеятельность плесеней

подавляется, хотя содержание кислорода при этом немногим меньше, чем в воздухе.

Рост спор *Mucor mucedo* в 10% CO_2 одинаков при концентрации кислорода 10, 20 и 50% [3]. При содержании 20% CO_2 те же концентрации кислорода также не оказывают заметного влияния на рост. Угнетение роста *Frichoderma lignorum* в атмосфере, содержащей 20, 40 и 60% CO_2 , оставалось неизменным независимо от концентрации кислорода в 5 и 20%.

По-видимому, угнетающее действие углекислого газа на микроорганизмы вызывается не понижением содержания кислорода, а специфическим влиянием углекислого газа.

Предполагают [206], что угнетение роста микроорганизмов обуславливается увеличением концентрации водородных ионов при растворении углекислого газа.

Величина рН мяса теплокровных животных при хранении в углекислом газе уменьшается от начального 6,1 до конечного 5,8 [261, 262].

В опытах при выращивании плесеней на агаровой среде с добавлением соляной кислоты, создававшей такую же и даже более низкую концентрацию водородных ионов, чем углекислый газ, почти не наблюдалось изменения жизнедеятельности плесеней. В случае добавления соляной кислоты в таком количестве, при котором наблюдался сдвиг рН значительно больший, чем получается при высоких концентрациях углекислого газа, все же снижение темпа роста плесеней не превышало снижения, наблюдавшегося под влиянием даже 20%-ной концентрации его.

Углекислый газ задерживает прорастание плесеней и удлиняет время, необходимое для появления колоний, тогда как другие кислоты, вызывающие те же изменения рН, что и углекислый газ, хотя и уменьшают темп роста плесеней, однако время, потребное для прорастания и появления колоний, не изменяют.

Сдвиг рН другими веществами до той же величины, что и углекислый газ, оказывает меньшую задержку роста бактерий, чем углекислый газ [218].

В опытах по влиянию разных величин рН среды на развитие яичек морского ежа (*Sesurahin*) отмечено, что углекислый газ подавляет жизненные функции при рН 8,0 и совершенно приостанавливает деление клеток при рН 6,3. При изменении же рН в результате добавления соляной кислоты замедления в развитии не наблюдается даже при рН 5,8 и 4,6 [214].

Из вышеприведенных данных очевидно, что угнетающее действие углекислого газа на жизнедеятельность микроорганизмов нельзя объяснить только увеличением концентрации водородных ионов. Несомненно, что и другие факторы воздействуют на микрофлору.

Имеется предположение, что угнетение микроорганизмов углекислым газом — результат изменения рН внутри клеток независимо от рН внешней среды [249].

Я. Я. Никитинский и В. С. Загорянский на основе большого экспериментального материала полагают, что углекислый газ действует на микроорганизмы как наркотик. Ранее в медицине углекислый газ широко применяли в качестве наркотического средства [36].

Для большинства водных организмов углекислый газ, как и сернистый газ, является сильным ядом. Оба эти газа оказывают анестезирующее действие, которое вначале ведет к параличу движения, а затем к смерти [128]. Углекислый газ, как и все анестетики, в малых дозах стимулирует жизненные процессы, в повышенных — тормозит жизнедеятельность и в значительных дозах ведет к отравлению и гибели организма. Действие анестетика сводится главным образом к изменению осмотического давления в живой клетке и извлечению из нее некоторого количества влаги.

Углекислый газ, обладая повышенной растворимостью в воде и липоидах, влияет на коллоидную структуру и изменяет проницаемость клеточных оболочек как растительного, так и животного происхождения.

Как известно, клеточные мембраны гораздо более проницаемы для недиссоциированных слабых кислот и оснований, чем для свободных ионов. Особенно легко проникают в клетки углекислота и аммиак [106]. Скорость гемолиза эритроцитов млекопитающих в растворах NH_4Cl может быть сильно повышена (в 50 раз и более) прибавлением малого количества бикарбоната [16].

Из приведенных данных видно, что в вопросе раскрытия механизма действия углекислого газа на живую клетку установленным можно считать лишь то, что углекислый газ обладает специфическим угнетающим действием на микроорганизмы, зависящим не только от увеличения концентрации водородных ионов, но и от других причин. Далее, важнейшее значение имеет экспериментально выявленное В. С. Загорянским увеличение проницаемости растительной клетки и извлечение влаги из нее при повышенных концентрациях углекислого газа.

Углекислый газ, представляющий собой ангидрид угольной кислоты, получается в технике при сжигании топлива, обжиге известняков, при брожении. Некоторые физические свойства его приводятся в табл. 1.

Таблица 1

Физические свойства некоторых газов и паров воды

Газы	Удельный вес в кг/м^3	Коэффициент теплопроводности при $0-2^\circ$ в ккал/м час°	Теплоемкость при постоянном давлении при 0° C_p $\text{ккал/кг-моль}^\circ$	Вязкость в микропузах
Кислород	1,420	0,025	6,9	204
Азот	1,26	0,023	6,9	176
Воздух	1,293	0,024	6,9	181
Углекислый газ	1,97	0,012	9,1	148
Водяной пар	—	0,012	8,38	—

Углекислый газ в 1,5 раза тяжелее воздуха, в 2 раза менее теплопроводен, имеет большую теплоемкость.

В. С. Загорянский указывает, что, по данным Эмблина, при хранении плодов и ягод в углекислом газе и водороде потеря влаги вдвое меньше, чем в воздухе. Испарение в азоте такое же, как в воздухе. По опытам В. С. Загорянского, при хранении моркови усушка уменьшается лишь при малых концентрациях углекислого газа, при более высоких, наоборот, наблюдается потеря влаги.

Потеря влаги при высоких концентрациях углекислого газа объясняется изменением проницаемости клеток, что следует и из наших опытов по определению удельного веса кусочков рыбы при хранении в атмосфере с разным содержанием углекислоты (см. ниже).

Многие исследователи указывают, что углекислый газ обладает повышенной проницаемостью через оболочки и более высокой растворимостью в различных веществах сравнительно с другими газами. Это подтверждается приведенным ниже соотношением времени прохождения через каучук равных объемов газов (время прохождения углекислоты принято за 100):

CO_2 — 100, H_2 — 247, O_2 — 532, CH_4 — 636, CO — 1220, N_2 — 1358.

Растворимость углекислоты в воде при умеренных температурах и давлениях пропорциональна давлению, т. е. подчиняется закону Генри, который выражается уравнением

$$C = \psi P_a,$$

где: C — концентрация газа, растворенного в жидкости, в $кг/м^3$;
 P_a — парциальное давление газа над жидкостью в $ата$ (или в $мм$ рт. ст.);
 ψ — коэффициент Генри, зависящий от свойств газа и жидкости.

Для растворимости углекислого газа в воде

$$\psi = 3,288 \text{ кг/м}^3 \text{ ата или } 4,45 \cdot 10^{-3} \text{ кг/м}^3 \text{ мм рт. ст.}$$

Растворимость газов обычно понижается при повышении температуры; для нее может быть дана эмпирическая закономерность

$$\alpha = \frac{K}{T - n},$$

где n и K — постоянные.

Повышение растворимости газов с повышением температуры наблюдается очень редко и лишь в узких интервалах температуры: например, для водорода, азота и углекислого газа в некоторых органических растворителях (бензол, толуол, хлороформ) — между 20 и 25°.

С понижением температуры растворимость газов, согласно расчетам Винклера, повышается пропорционально корню кубическому из молекулярного веса.

Углекислый газ относится к среднерастворимым газам. Данные по растворимости углекислоты и некоторых других газов в воде приводятся в табл. 2.

Т а б л и ц а 2

Растворимость некоторых газов в воде в объемах газа, поглощенных единицей объема жидкости при парциальном давлении газа 760 $мм$ рт. ст.

Температура в°	Азот (атмосферный)	Кислород	Окись углерода	Углекислый газ
0	0,0235	0,0489	0,0354	1,713
5	0,0209	0,0429	0,0315	1,424
10	0,0186	0,0380	0,0282	1,194
15	0,0168	0,0341	0,0254	1,019
20	0,0154	0,0310	0,0232	0,878
25	0,0143	0,0283	0,0214	0,757
30	0,0134	0,0261	0,0200	0,665
40	0,0118	0,0231	0,0177	0,530
50	0,0109	0,0209	0,0161	0,436
60	0,0102	0,0195	0,0149	0,359
80	0,0096	0,0176	0,0143	—
100	0,0095	0,0172	0,0141	—

Растворимость углекислого газа в спирте почти в 2,5 раза больше, чем в воде. Каучук поглощает равный себе объем углекислоты, серная кислота поглощает 0,92 $мл$ $CO_2/мл$.

При добавлении других веществ растворимость газов, в том числе и углекислого, обычно понижается (табл. 3, 4, 5).

Таблица 3

Растворимость углекислого газа в водных растворах неорганических веществ

Раствор	Температура в°	Растворимость CO ₂ при концентрации раствора в г-экв/л					
		0	0,5	1	2	3	4
HCl	15	1,019	0,989	0,974	0,948	—	—
	25	0,759	0,738	0,732	0,728	—	—
H ₂ SO ₄	15	1,019	0,965	0,927	0,869	0,825	0,785
	25	0,759	0,727	0,705	0,669	0,639	0,611
KCl	15	1,019	0,925	0,850	—	—	—
	25	0,759	0,695	0,641	—	—	—
KJ	15	1,019	0,940	0,875	—	—	—
	25	0,759	0,710	0,666	—	—	—

Таблица 4

Растворимость некоторых газов в растворах хлористого натрия

Температура в°	O ₂ в растворе NaCl 26,4%-ном	N ₂ в растворе NaCl 11,9%-ном	CO ₂ в растворе NaCl 18,7%-ном	H ₂ в растворе NaCl 6,1%-ном
0	0,0061	—	0,678	—
5	0,0059	0,013	0,577	0,0181
10	0,0056	0,0096	0,503	0,0175
15	0,0054	0,0081	0,442	0,0164
20	0,0052	0,0066	0,393	0,0153
25	0,0050	0,0048	0,352	0,0138
30	0,0048	—	0,319	—

Таблица 5

Растворимость некоторых газов и газовых смесей в сернокислом натрии при 25°

Газ или состав газовой смеси	Растворимость в г/л в 20%-ном растворе
O ₂	0,0081
N ₂	0,0045
CO	0,0036
CO ₂	0,247
Чистый воздух	0,0049
50% CO ₂ +50% воздуха	0,0124
10% CO ₂ +90% воздуха	0,0215
20% CO ₂ +80% воздуха	0,0410
14,4% CO ₂ +6,1% O ₂ + +79,5% N ₂	0,0284

Литературные данные по величине абсорбции углекислого газа мясом и жиром немногочисленны и не вполне однозначны, что объясняется различием методов исследования и химического состава проб.

Свежая говядина в процессе хранения в течение 11 дней при 100%-ной концентрации углекислого газа и температуре +4° поглощает 365,7 мг CO₂ на 100 г мяса, т. е. 1,86 мл на 1 г мяса. При содержании в атмосфере 10% углекислого газа мясо поглощает 0,25% от веса, т. е. 1,27 мл CO₂ на 1 г мяса.

Говяжье мясо при содержании в воздухе 10% CO₂ и температуре 0° поглощает 0,2% углекислого газа от собственного веса [209]. А. А. Маннербергер указывает, что в атмосфере, содержащей 10% CO₂, мясо может поглотить 0,015% газа от веса мяса. В литературе нет данных о зависимости коэффициента абсорбции от химического состава мяса.

По Шмидту-Нильсену, растворимость углекислого газа в растительных маслах при 20° и атмосферном давлении составляет 1,17—1,60 мл на 1 мл масла (маисовое, льняное), т. е. растворимость в 1,3—1,8 раза больше, чем в воде.

Шпик при 100%-ном содержании CO_2 и температуре 18° поглощает за 8 дней 1062 мг CO_2 на 100 г или 5,4 мл на 1 г. При 40° в свином жире растворяется 100,3 мл CO_2 на 100 мл жира.

Экснер установил, что газы диффундируют в воде со скоростью, прямо пропорциональной их растворимости и обратно пропорциональной квадрату их плотности; скорость диффузии для кислорода вдвое, а для углекислого газа в 55 раз более, чем для азота. Лангмюир [105] дал формулу зависимости коэффициента диффузии от молекулярного веса: $D=0,768\sqrt{M}$.

МЕТОДИКА ПОСТАНОВКИ ОПЫТОВ

Приводим методы исследований, с помощью которых определяли растворимость углекислого газа, изменение веса мышечной ткани рыбы при насыщении ее углекислым газом, состояние углекислого газа в мышечной ткани, влияние его на величину окислительно-восстановительного потенциала и активность протеиназ мышечной ткани рыбы.

Методика определения состава газовой среды

В процессе исследования углекислотного хранения рыбы и рыбных продуктов в ряде случаев требовалось быстро провести анализ газовой среды в сосудах очень малой емкости. При микробиологических исследованиях, например, нужно было определять содержание углекислоты и кислорода в сосудах емкостью менее 100 мл и даже в пробирках. Обычные технические газоанализаторы типа Орса, Норзе, ВТИ и другие непригодны для этой цели, так как для анализа требуется относительно большое количество газа, нужна предварительная продувка аппарата.

Описанные в литературе промышленные газоанализаторы сложны и не портативны [95, 102, 103, 172]. Лабораторные газоанализаторы для точного анализа газов также сложны, а процесс определения длителен [55, 86, 154, 144].

Простой и точный прибор для анализа весьма небольших количеств газа сконструирован и описан еще К. А. Тимирязевым [176]. Для наших работ, однако, нужен был прибор, позволяющий анализировать газ в сосудах любой емкости без предварительной продувки.

Для определения содержания углекислого газа, кислорода и азота в газовой смеси нами сконструирован простой по устройству и в эксплуатации газоанализатор, обеспечивающий достаточную точность и быстроту определения.

Газоанализатор пригоден для взятия проб газа и проведения анализа как в весьма малых объемах (например, в пробирках), так и в любых больших объемах, т. е. может заменить собой и газоанализаторы подобные Орса, ВТИ и другие.

Точность определений в этом газоанализаторе, зависящая от размеров пипетки, от градуировки ее, легко может достигать 0,3—0,5%, что для технологических исследований вполне достаточно.

В одной пробе газа можно определять последовательно углекислый газ, кислород и азот (азот — по разности).

Газоанализатор (рис. 1) состоит из стеклянной трубки (пипетки) с делениями, длиной 40—50 см, с внутренним сечением 1 мм. Кончик трубки имеет капиллярное отверстие. На противоположном конце имеется специальная насадка (маленький мембранный насос) с вращающейся рукояткой, с помощью которой можно набирать в трубку воду или ртуть или подсасывать газ и приводить содержимое пипетки в быстрое колебательное движение.

Перед взятием пробы газа в трубку набирается небольшой столбик дистиллированной воды (или ртути), затем подсасывается необходимое количество исследуемого газа. По окончании подсасывания газа удерживаемая в капиллярном отверстии пленка воды закрывает кончик пипетки. Затем пипетка открытым концом погружается в поглотитель; при быстром колебательном движении содержимого пипетки поглотитель постепенно поглощает углекислый газ и поступает в пипетку.

Процесс поглощения длится 25—40 сек. По окончании поглощения пипетка приводится в горизонтальное положение, и по делениям определяется объем поглощенного газа (в объемных процентах к содержанию его в пробе). Весь анализ длится не более 1—1,5 мин., причем проба газа может быть взята из любой точки сосуда, доступной для введения пипетки.

С помощью этого прибора проведены тысячи анализов содержания углекислоты и кислорода в газоздушных смесях в сосудах и контейнерах различной емкости.

Методика заполнения различных сосудов углекислым газом

Дозированная газоздушная смесь приготавливалась в газометре, подобном примененному в опытах ВНИИХИ [5], причем углекислый газ в газометр подавался из баллона.

Техника заполнения углекислотой сосудов любой емкости разработана нами на основании предварительных экспериментов, с учетом более высокого удельного веса углекислоты относительно воздуха.

На рис. 2 видно, что заполняемый газом сосуд вставляют в другой больший сосуд, неплотно прикрытый сверху листом картона, жести и т. п. В этот же сосуд помещают и крышку малого сосуда. Трубку, подводящую углекислоту или смесь ее с воздухом, вставляют в малый сосуд или помещают рядом с ним.

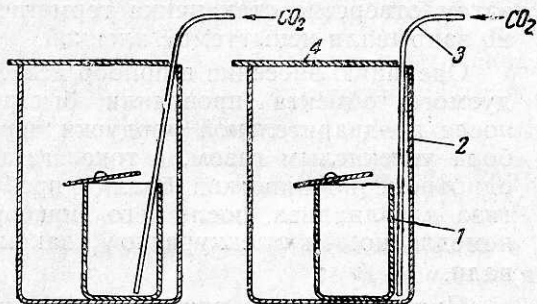


Рис. 2. Схема заполнения сосудов углекислым газом:

1—сосуд, заполняемый углекислым газом; 2—наружный сосуд; 3—трубка; 4—крышка.

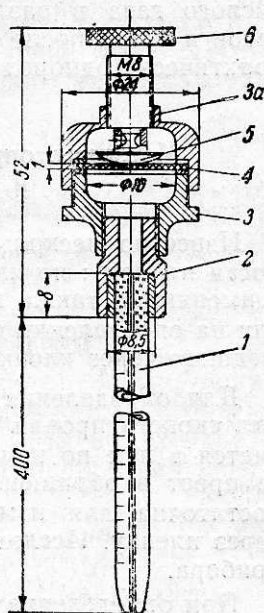


Рис. 1. Газоанализатор:

1—пипетка; 2—насадка; 3—корпус, нижняя часть; 3a—корпус, верхняя часть; 4—мембрана; 5—грибок (вращающийся); 6—головка винта.

При пропускании углекислоты или смеси углекислоты с воздухом в двух-трехкратном объеме по отношению к малому сосуду, если трубка вставляется в него, или по отношению к большому сосуду, если трубка располагается рядом с малым сосудом, в последнем обеспечивается необходимая концентрация углекислоты.

После проверки концентрации углекислого газа в сосуде картонную крышку осторожно сдвигают в сторону, малый сосуд плотно закрывают крышкой, и одновременно выключают подачу углекислоты. Атмосфера углекислого газа в большом сосуде обеспечивает закрывание малого сосуда без изменения концентрации газа в нем.

При погружении трубки, подводящей углекислый газ, внутрь заполняемого сосуда можно заполнить его газом, не применяя наружного сосуда, однако в этом случае при закрывании крышкой в сосуд может проникнуть воздух.

Описанным способом мы заполняли углекислым газом различные сосуды: банки, колбы, эксикаторы и т. д. Анализы содержания углекислого газа в различных точках больших сосудов через несколько часов и суток после их заполнения показали, что состав газовой смеси практически однороден.

Методика определения растворимости углекислого газа и проницаемости его через пленки

Известно несколько методов определения абсорбции (и проницаемости пленок): по изменению объема [45], давления [197, 200, 216, 225]; применяются также методы, основанные на химическом анализе газа или на определении оптических [145] и электрических свойств газа, прошедшего через пленку [232].

Для определения растворимости углекислоты в тканях рыбы нами был сконструирован специальный прибор. Поглощение газа определяется в нем по изменению давления. Устройство его видно из рис. 3, он прост в обращении, точность определений специально проверена и достаточна для измерений абсорбции и проницаемости углекислоты через пленку. Исследованием была тщательно проверена герметичность прибора.

При определениях абсорбции кусочки рыбы или целые рыбки помещали непосредственно в прибор, а жидкости — жир, растворы соли (хлористый натрий) — предварительно наливали в стеклянные стаканчики, которые затем устанавливали в прибор.

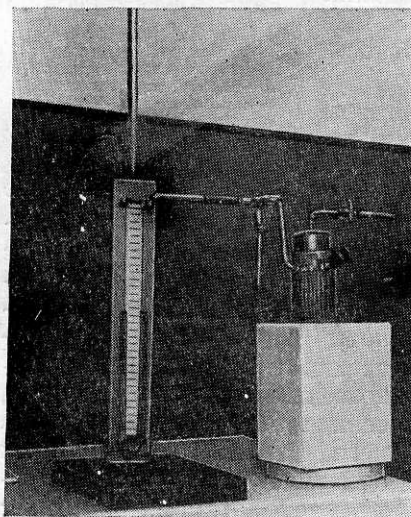


Рис. 3. Прибор для определения абсорбции углекислого газа и проницаемости его через пленки.

При определении проницаемости углекислого газа через пленки стеклянный стаканчик частично заполняли щелочью (60%-ный раствор КОН), затем отверстие стаканчика герметично закрывали испытуемой пленкой.

Операцию внесения в прибор исследуемого объекта проводили быстро после предварительной продувки прибора углекислым газом, в то же время; одновременно пипеткой брали пробу газа для анализа, после чего прибор немедленно и аккуратно закрывали.

При закрывании прибора отмечали начальное показание открытого ртутного манометра и через определенные промежутки времени (5—30—60 мин.) измеряли разности уровней ртутного столбика в манометре.

Одновременно определяли температуру внутри сосуда, учитывали влажность воздуха в приборе, наружное давление в мм рт. ст. с учетом температуры ртути. Наблюдения проводили до установления равновесия.

Результаты измерений были сведены в таблицы, затем объемы газа в приборе приводили к объемам при нормальных условиях по формуле:

$$V_0^{1,2,3...n} = \frac{V^{1,2,3...n} \cdot 273}{273 + t} \cdot \frac{P \pm h}{760} \text{ мл}, \quad (1)$$

где: $V_0^{1,2,3...n}$ — объем газа в мл в приборе, приведенный к нормальным условиям для измерений первого, второго, третьего и т. д.;

$V^{1,2,3...n}$ — объем газа в мл в приборе до приведения к нормальным условиям для измерений первого, второго, третьего и т. д.;

t — температура внутри сосуда в °С;

P — наружное давление в мм рт. ст.;

h — разность уровней столбиков ртути в мм.

Примечания. 1. Изменение внутреннего объема прибора, происходящее в результате движения ртутного столбика, также учитывалось.

2. Наиболее точно изменение объема газа в данном приборе определяется в изотермических условиях опыта.

Количество абсорбированного газа, перечисленное на нормальные условия (давление 760 мм рт. ст., температура 0°) и отнесенное к единице веса абсорбента (при определении растворимости) или к единице площади перепонки (при определении проницаемости), изображали графически в системе координат, как функцию времени, что давало возможность определять величину и скорость абсорбции или проницаемости газа при условиях опыта.

Количество газа, абсорбированного объектом при закрывании прибора, учитывалось при построении кривых растворимости.

Коэффициент абсорбции (α) выражен в мл $\text{CO}_2/\text{г}$, коэффициент проницаемости — в мл $\text{CO}_2/\text{см}^2$ час 760 мм рт. ст.

Методика анализов

Все анализы проводили в двух параллельных определениях¹ по следующим методикам: влагу и жир в мышечной ткани определяли по методу сухого обезжиренного остатка [121]; золу — по стандартной методике; общий азот — полумикрометодом Кьельдаля с применением прибора Широкова [121]; белковый азот — по разности между содержанием общего и остаточного азота.

Остаточный азот определяли в безбелковом фильтрате после осаждения белков 20%-ной CCl_3COOH , а аминный азот — в безбелковом фильтрате по методу Попе и Стивенса [54].

pH определяли электрометрически хингидронным методом в 10%-ных водных вытяжках.

РАСТВОРИМОСТЬ УГЛЕКИСЛОГО ГАЗА

Растворимость углекислого газа в тканях рыбы и в растворах хлористого натрия

Результаты многократных определений растворимости углекислого газа в рыбьем жире показывают (рис. 4), что абсорбционные коэффициенты жира рыб и дельфина неодинаковы, что можно объяснить различием их состава.

В исследованных жирах абсорбционный коэффициент при температуре 2° равен от 2,5 до 2,8, при 15 — 25° — от 1,70 до 2,0, при 30 — 32° —

¹ Растворы, применявшиеся для проведения анализов, приготавливали на дважды перегнанной дистиллированной воде.

ст 1,5 до 1,7, т. е. растворимость углекислоты в жире значительно выше, чем в воде. Высокая растворимость в жире, по-видимому, обуславливает наркотическое действие углекислоты на живую протоплазму [120]. Сила же действия наркотиков, как известно, зависит от величины

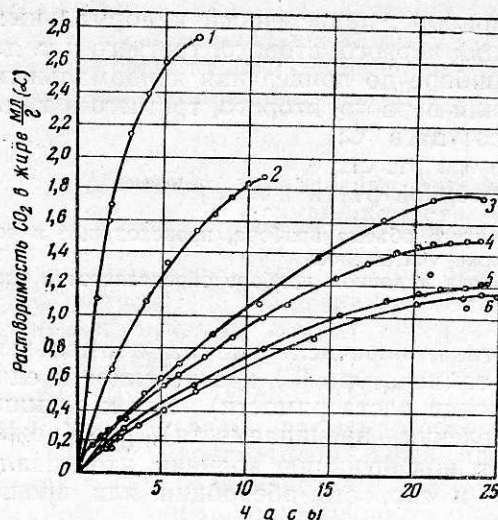


Рис. 4. График растворимости углекислого газа в жире рыб и дельфина:
1—медицинский дельфиний жир, $t=15^{\circ}$; 2—медицинский дельфиний жир, $t=30^{\circ}$; 3—жир хамсы, $t=20^{\circ}$; 4—медицинский тресковый жир, $t=25^{\circ}$; 5—жир внутренностей язя, $t=20^{\circ}$; 6—жир внутренностей язя, $t=26^{\circ}$.

коэффициента распределения их в смеси воды и жироподобных веществ.

Температурный коэффициент растворимости углекислого газа в жире отрицателен.

При уменьшении содержания углекислого газа в атмосфере основная масса газа быстро улетучивается из жира, следовательно, углекислота находится в жире в свободном состоянии. При хранении жира, насыщенного углекислым газом, на воздухе в слое толщиной 1—1,2 см 50% углекислого газа выделяется из жира в течение нескольких минут, последующее выделение газа весьма замедляется, так как зависит, очевидно, от диффузии его из глубинных слоев.

Результаты опытов по определению скорости улетучивания углекислого газа из медицинского трескового жира при

хранении его на воздухе приведены ниже. Содержание газа в жире определяли методом вакуумирования и поглощения его щелочью [43].

Продолжительность хранения	До хранения					
	3—5 мин.	2 час.	7 час.	24 часа	50 час.	
Содержание CO_2 в жире в мл/г	1,5	0,6	0,4	0,33	0,14	0,08

Удельный вес жира (табл. 6) до и после насыщения его углекислотой определяли пикнометром [89].

Таблица 6

Удельный вес рыбьего жира, насыщенного углекислым газом

Жир	Удельный вес			Отношение удельного веса к первоначальному
	начальный	конечный	разность	
Медицинский дельфиний ¹	0,9191	0,9210	0,0019	1,002
Внутренностей язя ²	0,9236	0,9259	0,0023	1,002

¹ Среднее из 8 определений.
² Среднее из 6 определений.

Удельный вес рыбьего жира увеличивается на 0,002. При абсорбции углекислого газа другими продуктами удельный вес их также меняется. Так, удельный вес газированного молока повышается на 0,003 [70].

Определения рН и кислотности жира, проводившиеся со всеми предосторожностями против утечки газа, показали, что жир (табл. 7), насыщенный углекислым газом, имеет более высокую концентрацию водородных ионов и более высокое кислотное число (мнимое) по сравнению с контролем.

Т а б л и ц а 7

Величина рН и общей кислотности жира до и после насыщения углекислым газом

Жир	Температура в°	рН	Общая кислотность в мМ КОН/г жира (при рН 8,5)	Примечание
Медицинский дельфиний	29	7,2	0,83	Определения производили в растворе 1 г жира в 30 мл спирто-эфирной смеси (эфира — 50%, спирта — 50%)
То же, насыщенный CO ₂	29	6,9	1,06	

Результаты многократных опытов определения растворимости углекислого газа в мясе рыбы свежей, вареной, копченой и слабосоленой приведены на рис. 5 и 6.

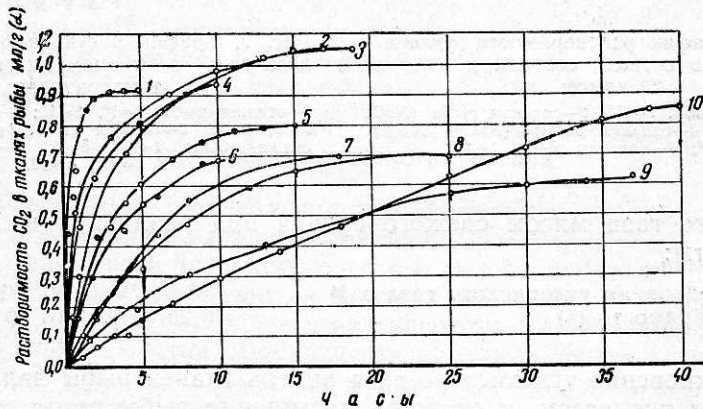


Рис. 5. График растворимости углекислого газа в мясе свежей и вареной рыбы:

1—фарш из вареного леща, $t=25^{\circ}$; 2—тунья свежая, $t=8^{\circ}$; 3—тарань вареная, $t=22^{\circ}$; 4—филе свежего судака, $t=18^{\circ}$; 5—хамса свежая, $t=20^{\circ}$; 6—мясо вареного язя, $t=29^{\circ}$, $\delta=17$; 7—густера свежая, $t=18^{\circ}$; 8—мясо вареного язя, $t=29^{\circ}$, $\delta=25$; 9—белок куриного яйца, $t=18-20^{\circ}$, $\delta=50$; 10—язь копченый, целая рыба, $t=20^{\circ}$, $\delta=18$.

Величина растворимости углекислого газа в мясе рыб различна. Более жирные рыбы абсорбируют большее количество углекислоты. Коэффициент абсорбции углекислого газа у исследованных рыб при температуре $15-25^{\circ}$ находится в пределах $0,75-1,20$. Технологическая обработка изменяет величину растворимости углекислого газа в рыбе.

С повышением солёности коэффициент абсорбции углекислого газа тканями хамсы несколько уменьшается. Однако для вяленой рыбы уменьшение коэффициента абсорбции очень незначительно, так как в ней, в результате сушки, возрастает относительное содержание белковых и жировых веществ.

Температурный коэффициент абсорбции отрицателен и довольно велик. Так, для мяса свежего язя при $27^{\circ} \alpha=0,75$, при $1^{\circ} \alpha=1,4$ (рис. 7).

Растворимость углекислого газа пропорциональна парциальному давлению (концентрации). Приводим данные по величине абсорбции

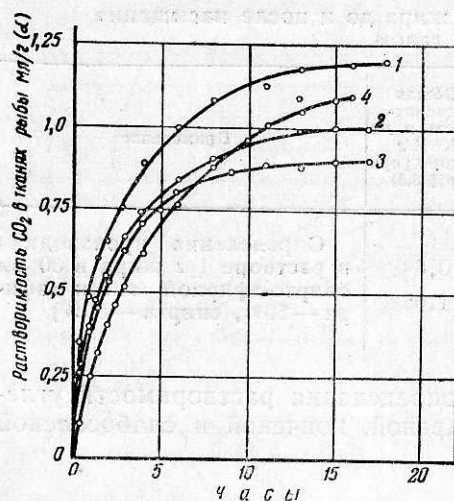


Рис. 6. График растворимости углекислого газа в свежей, соленой и вяленой хамсе:

1—свежая рыба, $t=15^\circ$; 2—соленая рыба (NaCl 8%), $t=18^\circ$; 3—соленая рыба (NaCl 11,3%), $t=18^\circ$; 4—вяленая рыба, $t=18^\circ$.

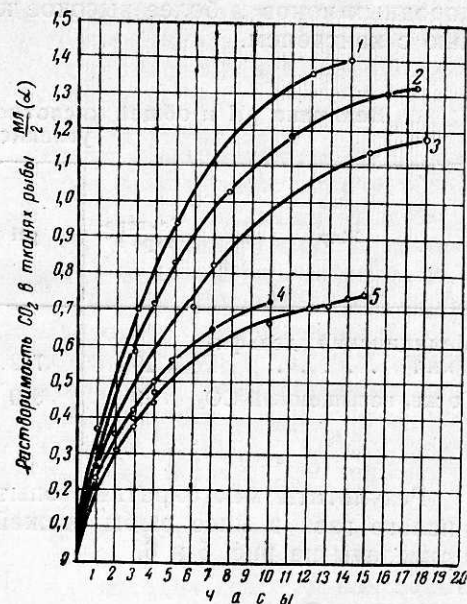


Рис. 7. График растворимости углекислого газа в тканях рыбы при разных температурах:

1—свежая рыба, $t=1^\circ$, $\delta=10$; 2—вареная рыба, $t=9^\circ$, $\delta=15$; 3—свежая рыба, $t=8^\circ$, $\delta=15$; 4—свежая рыба, $t=27^\circ$, $\delta=8$; 5—вареная рыба, $t=27^\circ$, $\delta=12$.

углекислого газа мясом свежего судака при различной концентрации углекислоты:

Концентрация углекислого газа в %	35	50	80	100
Растворимость (α)	0,26	0,39	0,61	0,77

Проникновение углекислого газа внутрь тканей рыбы является диффузионным процессом, и скорость насыщения рыбы газом при нахождении ее в слое определенной толщины зависит от ряда факторов: от температуры, плотности тканей, наличия и расположения жировых веществ, размеров рыбы, способа укладки и т. д.

При более высокой температуре рыба насыщается газом быстрее, чем при низкой. Вареная рыба, имеющая менее плотную структуру, чем свежая, насыщается газом быстрее свежей.

Рыбный фарш, плотно уложенный в стаканчик слоем 50—60 мм, насыщается углекислым газом в течение 2—3 час., а куски рыбы толщиной 25—30 мм насыщаются газом лишь через 20—60 час.

Растворимость углекислого газа в водных растворах хлористого натрия определяли при концентрациях соли 5, 10, 15, 20, 25% (по весу) при температуре 18° .

Раствор соли наливали в бюкс, который помещали в прибор. Так как поверхность раствора в бюксе была относительно небольшой, то влажность в приборе после его закрывания медленно повышалась до состояния насыщения. Повышение парциального давления водяных паров в приборе искажало истинный характер абсорбции углекислоты раствором. Некоторое искажение вносил также воздух, медленно выделявшийся из солевого раствора. Чтобы избежать искажений, бюкс с

солевым раствором предварительно выдерживали в вакууме; перед заполнением прибора углекислый газ увлажняли до насыщения, пропустив его через склянку с водой.

Результаты определений растворимости углекислого газа в солевых растворах приведены на рис. 8. Абсорбция углекислого газа раствора-

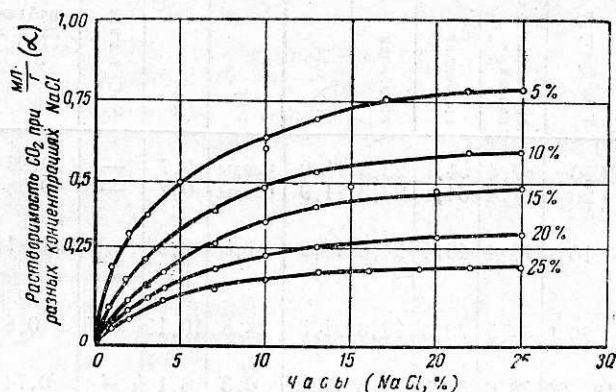


Рис. 8. График растворимости углекислого газа в растворах различной солености.

ми хлористого натрия уменьшается с повышением концентрации соли. Величина уменьшения растворимости углекислого газа при увеличении солености на 1% составляет 0,028 мл $\text{CO}_2/\text{г}$.

Растворимость углекислого газа в тканях рыбы как функция химического состава

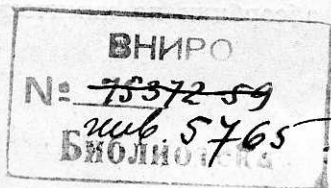
Экспериментальные определения коэффициентов абсорбции углекислого газа показывают различную величину растворимости его в тканях рыб. Растворимость углекислого газа в тканях рыбы, по-видимому, является аддитивным свойством и зависит от наличия и количества основных, составляющих продукт компонентов — влаги, жира, белковых веществ, солей. Состав этих веществ за время опыта остается постоянным.

Для определения по химическому составу продукта величины абсорбции CO_2 углекислого газа нужно знать коэффициенты абсорбции газа относительно составных частей продукта.

Результаты прямого определения коэффициента абсорбции углекислого газа белком куриного яйца при 10° и 20° показывают, что не вся вода, имеющаяся в продукте, растворяет углекислоту (табл. 8). Поглощение углекислого газа водой, содержащейся в яичном белке, согласно расчету, составит при 10° — 1,04 и при 20° — 0,77 мл $\text{CO}_2/\text{г}$, т. е. вода должна абсорбировать углекислый газ в большем количестве, чем это наблюдается для всей навески.

Связанная в коллоидной системе вода, по-видимому, не растворяет углекислоту, как и другие вещества. Белковые вещества абсорбируют углекислоту. Так, например, имеются данные [26, 63], что белковые вещества крови связывают некоторое количество углекислого газа. Мы также наблюдали (см. ниже) связывание некоторой части растворенной углекислоты мышечной тканью рыбы.

Коэффициент абсорбции углекислого газа белковыми (азотистыми) веществами затруднительно определить прямым экспериментом, но можно определить вычислением.



Абсорбция углекислого газа (α_f) белком куриного яйца и рыбопродуктами

Продукт	Температура в °С	Химический состав в %							α_f		
		вода			N × 6,25	жир	зола	NaCl в мясе	наблюдаемое	расчетное с учетом растворимости CO ₂	
		свободная и связанная	свободная	связанная						в свободной воде	в свободной и связанной воде
Белок куриного яйца	{ 10 20	87,4 87,4	64,1 64,1	23,3 23,3	11,9 11,9	Следы Следы	0,7 0,7	— —	0,96 0,66	0,96 0,66	1,04 0,77
Тюлька свежая	10	70,4	46,4	24,0	16,2	11,6	2,8	—	1,1—1,15	1,15	1,46
Тюлька полугорячего копчения . .	20	44,5	22,5	22,0	21,5	23,8	10,15	6,7	0,8	0,83	1,02
Судак свежий, мясо . .	18—20	78,6	51,3	27,3	17,9	0,3	3,1	—	0,74	0,72	0,96
Судак вареный, мясо . .	18—20	77,8	56,5	21,3	19,0	0,31	2,6	—	0,85—0,9	0,78	0,98
Тарань свежая	15	78,9	66,0	12,9	18,1	2,3	1,0	—	1,02—1,1	1,03	1,13
Барабуля летняя горячего копчения	20	63	42	21,0	26,1	7,3	3,6	3,0	0,85—0,90	0,85	1,02
Хамса свежая	{ 20 15	64,2 60,8	38,0 44,6	26,2 16,2	15,8 16,95	17,6 18,96	2,5 1,9	— —	0,83 1,2	0,87 1,15	1,10 1,31
Хамса соленая	{ 18 18	58,3 56,7	52,0 51,7	6,3 5,0	11,92 12,73	19,61 16,71	9,9 13,8	7,6 11,3	1,0 0,9	0,92 0,84	0,97 0,84
Хамса вяленая	18	30,3	30,3	0	30,40	22,1	16,9	13,8	1,08	1,05	1,05

Примечание. В расчет включена концентрация NaCl или в свободной, или во всей воде, содержащейся в продукте $\left(\frac{\text{NaCl}}{\text{вода} + \text{NaCl}} \right)$.

Так, например, для сырого протеина яичного белка коэффициент абсорбции углекислого газа после исключения части углекислоты, поглощенной свободной водой, составит при 10° 1,6 мл CO₂/г, а при 20° — 0,82 мл CO₂/г; для сырого протеина мышечной ткани тюльки и судака — соответственно (приблизительно) 2,0 и 1,5 мл CO₂/г.

Коэффициент абсорбции жировых веществ определяли прямым экспериментом. Для исследованных рыб приблизительно можно принять следующие средние значения коэффициента абсорбции углекислого газа жиром: при 10° — 2,5—3,0; при 20° — 1,2—1,8 мл CO₂/г.

Поглощением газа солями, входящими в состав костей и других плотных элементов рыбной ткани, можно пренебречь ввиду очень плотного строения этих тканей.

Соли (хлористый натрий), находящиеся в мышечном соке подсоленных продуктов (в слабосоленой рыбе или в рыбе полугорячего копчения), должны снижать растворимость углекислого газа в водной фракции. Величина уменьшения абсорбции углекислого газа растворами хлористого натрия нами определена экспериментально. Принимаем, что в мышечном соке рыбы сохраняется та же закономерность.

Так как абсорбция углекислого газа продуктом зависит от вида и количества веществ, составляющих продукт, то можно определить коэффициент абсорбции по химическому составу продукта как сумму

коэффициентов абсорбции углекислоты составляющими продукт компонентами.

Коэффициент абсорбции углекислого газа продуктом при данной температуре определяется формулой

$$\alpha_i = [\alpha_w W (1 - fD) + \alpha_b B + \alpha_c C] 0,01 \text{ мл CO}_2/\text{г}, \quad (2)$$

где: W — содержание свободной воды в продукте в %;
 B — содержание белка (сырого протеина) в %;
 C — содержание жировых веществ в %;
 D — содержание поваренной соли в %;
 α_w — коэффициент абсорбции углекислого газа водой при данной температуре;
 α_b — коэффициент абсорбции углекислого газа белком при данной температуре;
 α_c — коэффициент абсорбции углекислого газа жиром при данной температуре;
 f — коэффициент уменьшения абсорбции углекислого газа раствором при увеличении солёности на 1% (при 18° $f = 0,028 \text{ мл CO}_2/\text{г}$).

В табл. 8, кроме экспериментальных данных, приведены результаты определения α_i по формуле (2), причем для сравнения расчеты проведены с учетом поглощения углекислоты как всей водой, так и только свободной водой.

При оценке результатов определения α_i по формуле (2) необходимо учитывать приближенность некоторых коэффициентов и методик (например, определение связанной воды), а также ошибки эксперимента и анализа.

Для рыбы свежей и обработанной горячим копчением результаты расчета α_i с учетом растворения углекислоты только в свободной воде более близки к экспериментальному определению α_i , чем при допущении, что углекислота растворяется во всей имеющейся в продукте воде.

Для соленой и вяленой рыбы результаты расчета α_i по первому и второму способу близки между собой и в некоторых случаях совпадают. Это объясняется, во-первых, уменьшением гидратации белковых веществ при посоле и, во-вторых, большей расчетной концентрацией хлористого натрия в мышечном соке рыбы при допущении, что соль, как и углекислота, растворяется только в свободной воде.

СКОРОСТЬ НАСЫЩЕНИЯ РЫБОПРОДУКТОВ УГЛЕКИСЛЫМ ГАЗОМ

При хранении рыбных продуктов в контейнере в атмосфере углекислого газа скорость насыщения их углекислотой и, следовательно, скорость установления фазового равновесия в атмосфере контейнера и в тканях продуктов будет зависеть от ряда факторов.

Углекислый газ проникает в глубинные ткани продуктов в результате диффузии, поэтому скорость насыщения их углекислотой определяется законами диффузии и осмоса.

Как известно, количество растворенного вещества (dp), которое проходит в течение времени $d\tau$ через поверхность F (если обозначить через C концентрацию на уровне x), по Фику [53], равно

$$dp = -KF \frac{\partial c}{\partial x} d\tau, \quad (3)$$

где K — коэффициент диффузии — количество вещества в граммах, проходящее в одну секунду участок в 1 см^2 , в то время как концентрация растворенного вещества изменяется в промежутке в 1 см от n до $n+1 \text{ г/см}^3$.

При посоле рыбы, целиком погруженной в тузлук, градиент концентрации ($\frac{dc}{dx}$) создается разностью постоянной концентрации соли в тузлуке (C_0) и переменной (C). Одинаковые количества продиффундировавших соли и воды вызывают различные изменения концентрации в зависимости от объема, в который происходит диффузия. Учитывая этот объем и принимая средний путь диффузии (x) равным $1/4$ толщины (h) рыбы при допущении, что форма рыбы близка к пластине, Левандов [101] получил приближенное уравнение диффузии при посоле рыбы

$$dc = -2KQ^2(C_0 - C)d\tau, \quad (4)$$

где Q —удельная поверхность рыбы.

Из этого уравнения следует, что изменение концентрации соли в рыбе (dc) за время ($d\tau$) пропорционально разности концентрации ($C_0 - C$) и квадрату удельной поверхности рыбы.

Решение этого уравнения дает выражение

$$C = C_0(1 - e^{-2KQ^2\tau}). \quad (5)$$

Однако, по нашему мнению, более удобно вводить в расчет не удельную поверхность (Q), а наибольшую толщину рыбы (h)—величину, характеризующую размеры рыбы и линейную протяженность диффузии.

В этом случае

$$dc = -\frac{8K}{h^2}(C_0 - C)d\tau,$$

т. е. изменение концентрации соли в рыбе (dc) за время $d\tau$ пропорционально разности концентрации ($C_0 - C$) и обратно пропорционально квадрату толщины рыбы.

Отсюда следует

$$C = C_0(1 - e^{-\frac{8K\tau}{h^2}}). \quad (6)$$

При абсорбции CO_2 рыбой или другим продуктом, помещенным в атмосферу газообразной углекислоты, нужно учитывать, что поверхностный слой продукта (пленка) быстро насыщается углекислым газом в соответствии с коэффициентом абсорбции (α) и парциальным давлением CO_2 (P_{CO_2}).

Количество CO_2 , растворенное в поверхностной пленке продукта, и представляет собой (при условии однородности состава продукта) C_0 , т. е.

$$C_0 = \alpha P_{CO_2}, \quad (7)$$

где P_{CO_2} выражено в долях атмосферы.

Тогда

$$C = \alpha P_{CO_2}(1 - e^{-\frac{8K\tau}{h^2}}), \quad (8)$$

коэффициент диффузии

$$K = \frac{h^2}{8\tau} \ln \left(\frac{\alpha P_{CO_2}}{\alpha P_{CO_2} - C} \right) \quad (9)$$

и длительность диффузии

$$\tau = \frac{h^2}{8K} \ln \left(\frac{\alpha P_{CO_2}}{\alpha P_{CO_2} - C} \right). \quad (10)$$

Формулы (8, 9, 10) лишь приближенно соответствуют процессу насыщения рыбы углекислым газом, причем значение K является некоторой средней величиной за весь период насыщения и может характеризовать только данные условия опыта.

Формулы (7, 8, 9, 10) могут служить для приближенного определения скорости насыщения продуктов углекислым газом.

При $C = \alpha P_{CO_2}$, т. е. если продукт будет полностью насыщен углекислым газом, формулы (9, 10) упрощаются и принимают вид

$$K = \frac{h^2}{8\tau_i} \ln(\alpha P_{CO_2}) \quad (11)$$

и

$$\tau = \frac{h^2}{8K} \ln(\alpha P_{CO_2}). \quad (12)$$

В расчетах нужно учитывать, что на скорость абсорбции будут влиять структура тканей и способ обработки рыбы. Например, рыба горячего копчения, имеющая менее плотную структуру, чем свежая, насыщается углекислотой быстрее свежей. Фарш насыщается газом значительно быстрее, чем куски рыбы с такой же поверхностью и т. д., т. е. разные продукты, приготовленные даже из одного вида сырья, будут иметь разные значения K .

Далее, относительная поверхность расфасованных продуктов будет определяться не только формой и размерами отдельных рыбок или кусков, но также и способом расфасовки, а именно — плотностью и порядком укладки, размерами коробок. Эта поверхность будет больше, а следовательно, скорость абсорбции будет выше при менее плотной укладке и меньших размерах коробок, в которые расфасовывается продукт.

Длительность насыщения мелкой рыбы (хамсы, тюлька и др.) в атмосфере чистого углекислого газа составляет 11—20 час., более крупной (язь, лещ) — 30—60 час. и более (рис. 5). В табл. 9 приведены значения K для хамсы и растворов поваренной соли, вычисленные по данным рис. 6 и 8.

Таблица 9

Значения K для свежей, соленой и вяленой хамсы и растворов хлористого натрия

Объект	NaCl в %	α в мг/г	P_{CO_2}	C в мг/г	τ в час.	h в см	h^2 в см ²	$K \cdot 10^4$ в см ² /сек (при 18°)	
Хамса									
свежая	—	2,35	1,0	2,13	8,2	0,70	0,49	0,047	
соленая	8	1,97	1,0	1,77	7,7	0,70	0,49	0,050	
соленая	11,3	1,77	1,0	1,59	6,6	0,70	0,49	0,059	
вяленая	13,6	2,12	1,0	1,91	10,1	0,50	0,25	0,040	
Раствор NaCl . .	{	5	1,56	1,0	1,40	13,4	1,8	3,24	0,193
		10	1,28	1,0	1,15	13,3	1,8	3,24	0,193
		25	0,49	1,0	0,44	13,3	1,8	3,24	0,193

Полученные результаты для свежей и соленой рыбы довольно близки. Для вяленой рыбы значение K меньше, чем для свежей или соленой. В водных растворах хлористого натрия K значительно выше, чем в мясе рыбы. Это объясняется различной вязкостью сред.

ИЗМЕНЕНИЕ ВЕСА МЫШЕЧНОЙ ТКАНИ РЫБЫ ПРИ НАСЫЩЕНИИ УГЛЕКИСЛЫМ ГАЗОМ

При растворении углекислого газа в мясе рыбы происходят физико-химические изменения частично необратимого характера.

По внешнему виду мясо свежей рыбы после насыщения углекислым газом становится более эластичным и упругим, чем до опыта, и весьма напоминает состояние резкого посмертного окоченения. С увеличением содержания углекислого газа поверхность кусочков рыбы постепенно становится влажной и при высоких концентрациях (выше 70—80%) наблюдается незначительное выделение влаги на поверхности мяса рыбы. При хранении свежего леща в атмосфере углекислого газа было обнаружено, что влага, выделяющаяся из рыбы, включает растворенные белковые соединения, т. е. представляет собой тканевый сок.

Некоторые исследователи [171] считают, что посмертное окоченение происходит вследствие накопления в мышцах углекислого газа, образующегося в результате воздействия молочной кислоты на буферную карбонатную систему, а разрешение окоченения объясняют постепенным удалением этого газа из мускулов диффузией.

После насыщения углекислотой кусочков мяса свежей и вареной рыбы при комнатной температуре вес их уменьшается (табл. 10) вследствие выделения сока. Уменьшение в весе составляет 0,8—1,1% от первоначального веса свежей рыбы и 0,19—0,66% от веса вареной рыбы.

Таблица 10

Изменения веса кусочков рыбы (язь) при насыщении углекислотой

Рыба (проба)	Вес рыбы в г			Потеря в весе в % от началь- ного
	до насыщения CO ₂	после насы- щения CO ₂	разность	
Свежая	60,12	59,62	0,50	0,83
	51,97	51,55	0,42	0,81
	51,85	51,28	0,57	1,1
	52,72	52,30	0,42	0,8
В среднем	54,16	53,69	0,47	0,88
Вареная	50,05	49,81	0,24	0,48
	50,35	50,25	0,10	0,19
	51,55	51,21	0,34	0,66
	50,15	49,85	0,30	0,58
В среднем	50,52	50,28	0,24	0,47

Удельный вес мяса свежей и вареной рыбы до и после поглощения углекислого газа устанавливали при комнатной температуре по методу определения удельного веса пыли, несколько видоизмененному нами применительно к изучаемому объекту:

пикнометр взвешивают на аналитических весах;

рыбу нарезают на тонкие ломтики по ширине горлышка пикно-метра;

ломтики рыбы вводят в пикнометр, который вместе с рыбой взвешивают;

в пикнометр с рыбой добавляют прокипяченную дистиллированную воду, содержимое быстро перемешивают стеклянной палочкой при встряхивании для удаления пузырьков воздуха;

температуру пикнометра доводят до температуры, обозначенной на нем;

уровень воды доводят до метки;

пикнометр с рыбой и водой взвешивают.

Удельный вес мяса рыбы определяли по формуле

$$d = \frac{P_1 - P}{P_1 + P_2 - P_3} \quad (13)$$

где: d — удельный вес мяса рыбы;

P — вес пикнометра;

P_1 — вес пикнометра с рыбой;

P_2 — вес воды, вмещающейся в пикнометр (обозначено на пикнометре);

P_3 — вес пикнометра, заполненного рыбой и водой.

В табл. 11 приведены данные по изменению удельного веса мяса рыбы при различных концентрациях углекислого газа.

Таблица 11

Изменение удельного веса мяса свежей рыбы (судак) при хранении в атмосфере с различным содержанием углекислого газа

Определения	Концентрация CO ₂ в %	Удельный вес рыбы		$d_2 - d_1$
		свежей, d_1	после насыщения CO ₂ , d_2	
1 } 2 } 3 }	35	1,0570	1,0532	-0,0038
		1,0498	1,0435	-0,0063
		1,0503	1,0465	-0,0038
Среднее		1,0523	1,0477	-0,0046
1 } 2 } 3 }	50	1,0547	1,0530	-0,0017
		1,0501	1,0462	-0,0039
		1,0661	1,0622	-0,0039
Среднее		1,0569	1,0538	-0,0031
1 } 2 } 3 }	80	1,0559	1,0621	0,0062
		1,0472	1,0520	0,0048
		1,0518	1,0569	0,0051
Среднее		1,0516	1,0570	0,0054
1 } 2 } 3 }	100	1,0335	1,0523	0,0188
		1,0289	1,0460	0,0171
		1,0346	1,0504	0,0158
Среднее		1,0323	1,0495	0,0172

Из табл. 11 следует, что при насыщении углекислым газом (35—50%) удельный вес мяса свежей рыбы уменьшается; затем при дальнейшем увеличении концентрации углекислоты до 70—80% удельный вес мяса рыбы становится более начального и при концентрации 100% достигает наибольшей величины, увеличиваясь в среднем на 0,02 от исходного значения.

Изменения удельного веса мяса вареной рыбы при разных концентрациях углекислого газа при комнатной температуре показаны в табл. 12.

Таблица 12

Изменение удельного веса мяса вареной рыбы (тарань) при хранении в атмосфере с различным содержанием углекислого газа

Определения	Концентрация CO ₂ в %	Удельный вес рыбы		d ₂ -d ₁
		свежевареной, d ₁	после насыщения CO ₂ , d ₂	
1 } 2 } 3 }	30	1,0438	1,0439	0,0001
		1,0441	1,0323	0,0004
		1,0580	1,0448	0,0007
Среднее . . .		1,0369	1,0403	0,0004
1 } 2 } 3 }	50	1,0494	1,0490	-0,0004
		1,0363	1,0373	0,0010
		1,0550	1,0548	-0,0002
Среднее . . .		1,0469	1,0470	0,0001
1 } 2 } 3 }	70	1,0512	1,0497	-0,0015
		1,0368	1,0360	-0,0008
		1,0620	1,0600	-0,0020
Среднее . . .		1,0500	1,0486	-0,0014
1 } 2 } 3 }	100	1,0444	1,0402	-0,0042
		1,0429	1,0489	0,0060
		1,0570	1,0501	-0,0069
Среднее . . .		1,0481	1,0464	-0,0017

При содержании до 50% углекислого газа удельный вес вареной рыбы практически не меняется, при концентрации 70 и 100% он значительно уменьшается.

Удельный вес вареной рыбы изменяется меньше, чем свежей, что можно объяснить, по-видимому, меньшим содержанием влаги в вареной рыбе, а также главным образом потерей мускульной ткани свойств полупроницаемости вследствие тепловой коагуляции белков.

Результаты наблюдений за изменением упругости, влагосодержания и удельного веса мяса рыбы, хранившегося в атмосфере с различным содержанием углекислого газа, позволяют сделать следующие заключения.

1. При насыщении углекислым газом происходит набухание белковых веществ мышечной ткани рыбы.

2. Увеличение содержания углекислоты в мясе рыбы приводит, очевидно, к изменению осмотического равновесия, что обуславливает выделение клеточного сока из мускульной ткани. Если при набухании удельный вес мяса рыбы уменьшается, то в результате выделения клеточного сока, наоборот, увеличивается удельный вес.

При малых и средних концентрациях углекислого газа преобладают процессы набухания белковых веществ, при более высоком содержании углекислоты выделение влаги настолько значительно, что удельный вес тканей рыбы начинает превышать начальный.

Нами экспериментально установлено также, что при хранении 2—3% агара в строго стерильных условиях в атмосфере, содержащей более 70% углекислого газа, через 15—20 час. всегда наблюдается незначительное разжижение агара и выделение влаги на поверхности, тогда как при хранении на воздухе за этот срок влага не выделяется.

В опытах В. С. Загорянского при хранении моркови в атмосфере, содержащей до 8% углекислого газа, усушка уменьшается, но при концентрации 20% отдача влаги корнями моркови увеличивается. Мандарины при хранении в углекислом газе выделяли сок, содержащий сахар в количестве, близком к содержанию его в искусственно отжатом соке. Экспериментатор делает вывод, что в живой растительной ткани при хранении в атмосфере с повышенным содержанием углекислоты нарушается осмотическое равновесие. Повышается проницаемость растительных клеток, в результате выделяется заметное количество воды. Из наших опытов можно сделать такой же вывод в отношении животной ткани.

Выделение сока мясом рыбы в атмосфере углекислоты аналогично явлению, наблюдаемому в первых стадиях посола, когда наряду с проникновением соли внутрь клеток происходит встречное перемещение воды из клеток наружу.

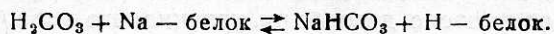
Раствор углекислого газа в мясе рыбы производит действие, внешне вполне аналогичное осмотическому действию крепкого раствора поваренной соли, т. е. как будто бы увеличивает осмотическое давление в соке внеклеточного пространства, уменьшая содержание влаги в клетках. Однако, если учесть, что раствор углекислого газа в мышцах рыбы вследствие относительно небольшого коэффициента абсорбции может обладать лишь весьма слабым осмотическим действием, то выделение сока из клеток мышечных волокон можно объяснить лишь увеличением проницаемости клеточных мембран. Подобное действие на клетку оказывают и концентрированные растворы хлористого натрия [16]. Это свойство углекислого газа, возможно, является одной из причин угнетающего действия его на микроорганизмы.

СОСТОЯНИЕ УГЛЕКИСЛОГО ГАЗА В МЫШЕЧНОЙ ТКАНИ РЫБЫ

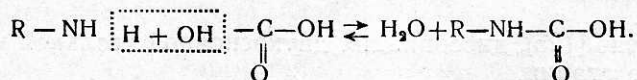
Связывание углекислоты

Углекислый газ в водном растворе образует двухосновную угольную кислоту, вступающую во взаимодействие с солевыми и белковыми компонентами мышечной ткани. Связывание растворенной угольной кислоты, как известно, происходит в крови [63, 124].

Б. И. Збарский указывает, что большое значение в процессе связывания растворенной углекислоты имеют щелочные соли белков крови, в частности, гемоглобин, при взаимодействии которого с H_2CO_3 в крови всегда образуется значительное количество бикарбонатов:



В последние годы установлено, что углекислый газ может присоединяться к гемоглобину прямо через свободные аминокислоты посредством карбаминовой (пептидной) связи, образуя нестойкое соединение карбогемоглобин [237, 254, 292, 300]:



Количество углекислоты, связываемой кровью, будет тем больше, чем выше парциальное давление углекислого газа в капиллярах ткани.

При нормальном значении рН крови концентрация бикарбоната в плазме крови превышает концентрацию свободной угольной кислоты приблизительно в 20 раз. По данным Брукс и Моран [209], при растворении в мышцах углекислый газ также переходит частично в бикарбонат, образуя ион HCO_3^- .

Для выяснения вопроса, вся ли углекислота находится в мышечных тканях рыбы в свободном виде и может легко улетучиваться из нее при помещении растертой ткани на воздух, или же часть ее в какой-то степени связывается, мы применили метод электрометрического титрования водных вытяжек мышечной ткани, считая, что расход щелочи на титрование одной и той же ткани должен быть различным в зависимости от наличия в ней угольной кислоты.

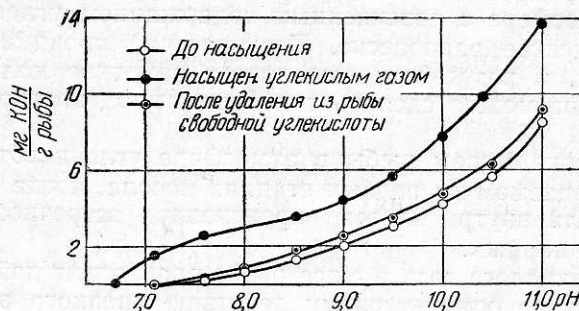


Рис. 9. Кривые титрования водных вытяжек рыбного фарша, насыщенного углекислым газом.

Титровали 0,01N раствором NaOH с применением лампового потенциометра со стеклянным электродом. Для титрования водной вытяжки мышечной ткани, насыщенной углекислым газом, применяли особую методику, исключаящую весьма быстрое улетучивание газа, наблюдаемое при обычных условиях титрования.

Навеску растертого рыбного фарша в стеклянном стаканчике помещали в сосуд для насыщения углекислым газом. После полного насыщения газом верхнюю пробку сосуда открывали, навеску фарша заливали слоем вазелинового масла, затем под масло вводили определенное количество дистиллированной воды (10:1) и фарш осторожно перемешивали с водой стеклянной палочкой.

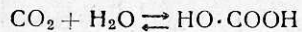
Фильтрования не применяли, так как в этом случае неизбежна утечка углекислоты. После настаивания и периодического перемешивания в течение часа пробу в количестве 15—20 мл также под слоем вазелинового масла оттитровывали щелочью из микробюретки с оттянутым капиллярным концом, погруженным в водную вытяжку под слой масла.

В параллельно взятой и контрольной пробах водные вытяжки титровали после часового настаивания в тонком слое при периодическом перемешивании, т. е. после десорбции углекислого газа. Нейтрализовали водные вытяжки до pH 11,0. Результаты титрования наносили на график. На рис. 9 изображены средние результаты четырех серий опытов; из трех кривых титрования верхняя — после насыщения углекислотой, средняя — после десорбции углекислоты, нижняя — до насыщения (контроль). Расхождение результатов в отдельных опытах не превышало 10%.

Как известно [125], диссоциация двухосновной угольной кислоты происходит в две стадии.

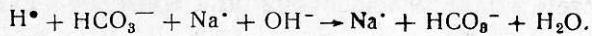
Константа первой стадии диссоциации выражается величиной $5-7,5 \cdot 10^{-4}$, второй стадии значительно меньше — только $6 \cdot 10^{-11}$.

При насыщении водных растворов углекислым газом образуются также гидраты типа оксимуравьиной кислоты



с более высокой степенью диссоциации, чем угольная кислота [235, 255].

При титровании раствора угольной кислоты щелочью вначале образуется бикарбонат согласно уравнению

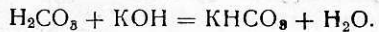


pH для бикарбоната смещен в щелочную сторону и близок к 9.

В нашем случае pH образующегося бикарбоната будет менее 9, в связи с большим разведением, причем определить его расчетом затруднительно, но легко определить по кривым титрования.

Из рис. 9 следует, что нейтрализация угольной кислоты щелочью и превращение ее в бикарбонат полностью заканчивается при pH 8,2—8,5 (перегиб верхней кривой), что и нужно считать концом титрования в данном случае. Разность ординат верхней и нижней кривых титрования вытяжек (после и до насыщения углекислым газом), выраженная в мг KOH/г мяса рыбы при pH 8,2—8,5 позволяет определить общее содержание углекислоты в тканях рыбы.

Количество углекислоты, имеющееся в тканях рыбы, определится из соотношения молекулярных весов реагирующих веществ согласно уравнению



Содержание углекислоты в 1 г мяса рыбы, соответствующее результатам титрования, будет равно 0,92 мл $\text{CO}_2/\text{г}$.

Прямым определением поглощенной рыбным фаршем углекислоты в приборе найдено $\alpha = (0,90 \pm 0,03)$ мл $\text{CO}_2/\text{г}$. Совпадение результатов вполне удовлетворительное. Дальнейшее титрование вытяжки показывает, что бикарбонат полностью превращается в карбонат при pH 10,4—10,6.

Многочисленные проведенные опыты титрования водной вытяжки из рыбы, насыщенной углекислым газом, с последующей десорбцией газа на воздухе показывают (средняя кривая), что некоторая часть его не улетучивается, а остается в тканях рыбы, но затем переходит в раствор. Эта часть углекислоты, по-видимому, в какой-то степени связывается с тканями рыбы.

Кривые титрования дают возможность определить количество этой части углекислоты. При pH 8,2—8,5 количество всей абсорбированной мышцами углекислоты (разность ординат верхней и нижней кривых) эквивалентно 2,3 мг KOH/г, тогда как количество связанной углекислоты составляет 0,3 мг KOH/г, что соответствует 12—15% от всей содержащейся в тканях углекислоты.

Изменение pH и кислотности мышечной ткани рыбы

Величина pH мяса теплокровных животных при хранении в углекислом газе, как уже сказано выше, изменяется от начального 6,1 до 5,8.

Углекислый газ, растворяясь в питательных средах, заметно подкисляет их, несмотря на то, что все белковые питательные среды обладают буферными свойствами (табл. 13).

В безбуферных средах pH при растворении углекислого газа снижается еще более. По нашим определениям, при насыщении, напри-

Таблица 13

Изменение рН агаровой среды под влиянием углекислого газа

Агар	рН при концентрации CO ₂ в %						
	0	10	20	30	50	70	100
Солодовый . . .	5,7	5,0	4,8	4,8	4,65	4,5	4,5
Мясной	6,9	—	6,0	5,8	—	—	5,8

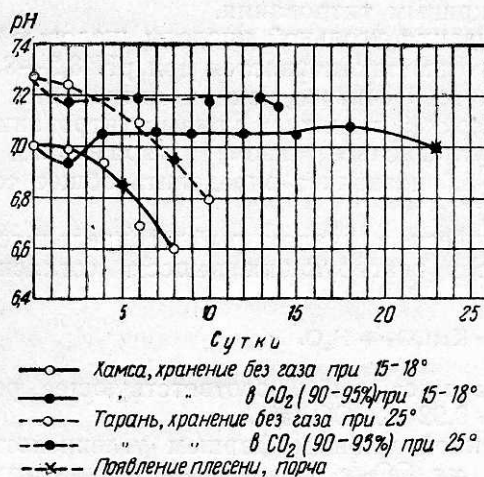
мер, дистиллированной воды углекислым газом при температуре 18—20° рН уменьшается от начального значения 6,3—6,9 до конечного 4,0—4,3, т. е. рН сдвигается в кислую сторону на 2,3—2,6.

Величина рН водной вытяжки мышечных тканей рыбы после насыщения углекислотой, как видно из кривых титрования (рис. 9), снижается довольно заметно: от начального значения 7,1—7,3 до 6,2—6,3.

В опытах хранения вареной рыбы в атмосфере углекислоты нами определялся рН мышечной ткани рыбы в водной вытяжке после предварительной десорбции газа через различные сроки хранения.

рН водных вытяжек мышечных тканей рыбы, хранившейся в углекислом газе с концентрацией его 90—95%, в первые дни незначительно снижается (рис. 10), но затем повышается до первоначальной величины или близкой к ней и в течение длительного срока (13—18 суток) остается постоянным с колебаниями $\pm(0,01—0,03)$, т. е. в пределах точности измерений.

Рис. 10. Изменение величины рН водных вытяжек мышечной ткани вареной рыбы, хранившейся в углекислом газе.



В конце срока хранения при появлении признаков снижения качества рыбы (скисания) рН снижается.

рН контрольной рыбы, хранившейся при тех же температурных условиях на воздухе, довольно быстро начинает падать и уже через несколько суток снижается на 0,2—0,3, при этом рыба портится. В других случаях, наоборот, рН контрольной рыбы повышается.

Постоянство рН мышечных тканей рыбы, хранившейся в углекислом газе, может быть объяснено только наличием буферной системы угольная кислота — бикарбонат, причем эта система обладает большой буферной емкостью. Гендерсон [38] считает, что углекислый газ в растворах обладает мощными буферными свойствами, вытекающими из константы диссоциации и растворимости.

Если мы под буферной емкостью в данном случае будем понимать число миллиграмм-эквивалентов КОН, которое необходимо добавить к 1 см³ мышечной ткани, чтобы изменить рН на единицу, то получим следующее уравнение для средней буферной емкости мышечной ткани рыбы [126]:

$$\beta = \frac{\Delta \text{КОН } d}{\Delta \text{рН } q} \quad (14)$$

где: β — средняя буферная емкость в мг-экв/мл;
 Δ КОН — количество мг-экв щелочи, израсходованной на титрование;
 Δ рН — сдвиг рН;
 q — вес мяса рыбы в г;
 d — удельный вес рыбы.

Из рис. 9 видно, что при титровании водной вытяжки фарша после насыщения углекислым газом рН изменяется от начального 6,3 до 7,3 и расходуется 2 мг КОН или 0,0357 мг-экв на 1 г мяса рыбы. Следовательно,

$$\beta = \frac{0,0357 \cdot 1,05}{1,1} = 0,0375 \text{ мг-экв/мл.}$$

На титрование вытяжки рыбного фарша до насыщения углекислым газом от рН 7,1 до рН 8,1 расходуется 0,8 мл КОН или 0,0143 мг-экв на 1 г мяса рыбы. Согласно расчету

$$\beta_1 = 0,015 \text{ мг-экв/мл, отношение } \frac{\beta}{\beta_1} = 2,5,$$

т. е. буферная емкость повышается в 2,5 раза.

Из изложенного следует, что рыба, не насыщенная углекислым газом, т. е. главным образом белковая система ее, имеет значительно меньшую буферную емкость. Буферная система, образующаяся в мышечных тканях рыбы при абсорбции углекислого газа, по-видимому, является одновременно и одним из серьезных факторов торможения жизнедеятельности микроорганизмов, препятствующих изменению рН в необходимом для них направлении.

Е. М. Губарев [37] приводит результаты исследований по выращиванию *Vac. subtilis* на среде с недостаточной буферностью при разном начальном рН.

рН до посева	5,8	6,7	7,4	8,2
рН после 2 суток роста	7,7	7,7	7,8	8,2

В результате недостаточной буферности среды микробы к концу двухсуточного культивирования сдвигали реакцию от различной начальной почти к одинаковой концентрации водородных ионов, оптимальной для развития данного микроба.

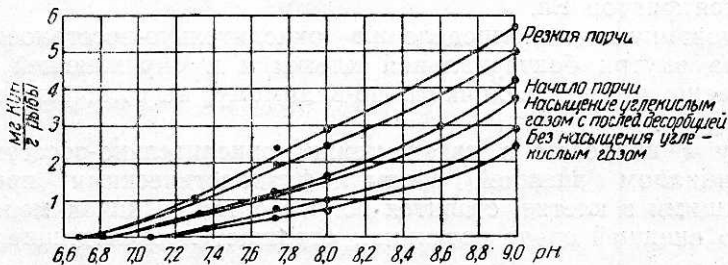


Рис. 11. Изменение кислотности мяса вареной рыбы при хранении в углекислом газе.

Кислотность вареной рыбы определяли сразу же после варки (и охлаждения), затем после насыщения рыбы углекислотой (и последующей десорбции газа) и, наконец, через разные сроки хранения. Результаты шести опытов (средние данные титрования) изображены на рис. 11.

Кислотность свежесваренной рыбы, выраженная в мг КОН/г рыбы, при рН 8,5, не превышает 1,5, рыбы, насыщенной углекислотой, с после-

дующей десорбцией газа — 1,7—1,8, а начинающей портиться — не менее 2,5. Кислотность мышц рыбы по мере ее прокисания увеличивается и в рыбе, находящейся в состоянии резкой порчи, составляет 3,5—4,3.

Кислотность рыбы, насыщенной углекислым газом, составляет при рН 8,5 около 3,5. Однако она определяется, как сказано выше, только при соблюдении особых мер, предохраняющих от десорбции углекислоты.

Из приведенных данных следует, что кислотность мяса вареной или копченой рыбы при углекислотном хранении, определяемая по общепринятым методикам, близка к кислотности свежего продукта. Повышение кислотности продукта является признаком наступающей порчи.

ВЛИЯНИЕ УГЛЕКИСЛОГО ГАЗА НА ВЕЛИЧИНУ ОКИСЛИТЕЛЬНО-ВОССТАНОВИТЕЛЬНОГО ПОТЕНЦИАЛА МЫШЕЧНОЙ ТКАНИ РЫБЫ

Для развития микроорганизмов имеет значение не только состав питательной среды и ее активная кислотность (рН), но и окислительно-восстановительное состояние среды, которое зависит от соотношения концентраций окисленных и восстановленных веществ, имеющих в этой среде.

Окислительно-восстановительное состояние среды, или потенциал системы (Eh), определяется относительно водородного электрода и выражается в вольтах.

В ряде случаев удобнее пользоваться не Eh, а величиной логарифма концентрации молекулярного водорода с обратным знаком (гН). Величина гН выражает концентрацию молекул водорода (H₂) в атмосферах.

Значения Eh, рН, гН связаны общим уравнением (при 18°).

$$гН = \frac{Eh}{0,029} + 2рН. \quad (15)$$

Результаты многочисленных исследований по этому вопросу подробно освещены в капитальных сводках С. И. Кузнецова [96], Н. И. Некрасова [130, 131], Вюрмзера [23], Л. Михаэлиса [123] и Э. С. Канель [75].

Учеными выработаны методики культивирования строгих анаэробов при полном доступе кислорода, путем искусственного снижения потенциала питательной среды; при культивировании аэробов также учитывается фактор Eh.

Исследованиями по определению окислительно-восстановительного потенциала внутри бактериальной клетки и в окружающей ее среде было найдено, что эти величины, по-видимому, не отличаются друг от друга [198].

Наряду с вопросом о связи между окислительно-восстановительным потенциалом внешней среды и физиологическими процессами, происходящими в клетке, ставится вопрос о том, в какой мере определяемый во внешней среде потенциал отражает происходящие в клетке процессы.

Окислительно-восстановительный потенциал обычных питательных сред при развитии микроорганизмов снижается сравнительно с начальным стерильной среды, причем кривые изменения потенциала и конечные величины его специфичны для некоторых видов микроорганизмов [158, 246, 258].

Влияние кислорода на характер изменения потенциала в культурах микроорганизмов различно для каждого их вида. В культурах некоторых микроорганизмов, например гемолитического стрептококка, во время аэрации он вначале снижается, но затем приостанавливается. Степень уменьшения потенциала составляет около 50% от величины

падения в обычной аэробной культуре. В других культурах, например стафилококка, аэрация почти не отражается на степени падения потенциала.

З. П. Успенская изучала величины Eh, гН и рН у корнеплодов и плодов. Величина гН для большинства изученных объектов, например яблок, огурцов, картофеля и других, находится в пределах 15—23. Она нашла, что направление биохимических реакций в плодах и корнеплодах определяется внутренним состоянием среды — значениями Eh и рН.

В некоторых случаях результаты изучения окислительно-восстановительного потенциала находят уже практическое применение для регулирования жизнедеятельности микроорганизмов, развивающихся на пищевых продуктах.

В. М. Богданов [12] обнаружил у дрожжей способность задерживать повышение окислительно-восстановительного потенциала среды на уровень Eh, равном 170—200 мв, при совместном культивировании их с молочнокислыми бактериями. Эту способность дрожжей автор кладет в основу способа удлинения срока сохранения масла.

Проведенные нами определения влияния абсорбированного мышечными тканями рыбы углекислого газа на окислительно-восстановительный потенциал могут иметь значение для характеристики биохимических изменений тканей как среды, в которой развиваются микроорганизмы.

Для насыщения углекислым газом фарша его помещали в атмосферу углекислого газа 95—100%-ной концентрации на 10—20 час.

Eh и рН определяли ламповым потенциометром со стеклянным электродом в водной 10%-ной вытяжке. При этом устанавливают не абсолютные, а средние значения Eh и рН, трудно определяемые непосредственно в мышечной ткани рыбы, вследствие неоднородности ее строения. Для разведения применяли дважды перегнанную, предварительно прокипяченную воду. Параллельные определения очень близки между собой; гН определяли расчетным методом по формуле (15).

Результаты определений приведены в табл. 14.

Т а б л и ц а 14

Величина рН, Eh и гН водной вытяжки фарша рыбы, белка куриного яйца и воды до и после насыщения углекислотой при температуре 18°

Проба	рН	Eh	гН
Фарш свежего леща	7,12	62	16,4
То же, после насыщения углекислым газом	6,08	100	16,2
Фарш вареного леща	7,2	57	16,4
То же, после насыщения углекислым газом	6,21	117	16,4
Белок куриного яйца	9,05	—66	16,2
То же, после насыщения углекислым газом	7,76	+30	16,0
Дистиллированная вода	6,31	170	18,5
То же, после насыщения углекислым газом	4,55	195	15,8

Из табл. 14 видно, что насыщение углекислым газом вызывает значительный сдвиг рН водной вытяжки мяса рыбы и особенно белка куриного яйца и дистиллированной воды в кислую сторону. Различия в степени сдвига рН объясняются, естественно, разной величиной абсорбции углекислоты и буферности сред. Окислительно-восстановительный потенциал при абсорбции углекислоты характеризует умень-

шение окислительных свойств среды, что связано, по-видимому, с потерей некоторого количества кислорода, улетучивающегося при растворении углекислого газа. Различия в сдвиге Eh зависят от вязкости, степени дисперсности, а также геометрических соотношений исследуемых объектов, так как они влияют на диффузию газов. Величина гН, заметно изменяющаяся при растворении углекислого газа в дистиллированной воде, в других случаях менее показательна.

После десорбции из тканей рыбы свободной углекислоты значения рН и Eh изменяются незначительно по сравнению с первоначальными; гН практически не меняется (табл. 15).

Таблица 15

Величины Eh, рН и гН мяса вареной рыбы при 18° после поглощения и последующей десорбции углекислоты

Проба мяса	рН	Eh	гН
Вареная хамса	6,9	74	16,4
То же, после поглощения и последующей десорбции углекислого газа	6,8	79	16,3
Вареная тарань	7,08	71	16,6
То же, после поглощения и последующей десорбции углекислого газа	7,07	69	16,6

При хранении вареной рыбы в атмосфере, содержащей 80—90% углекислого газа, Eh, определяемый после десорбции углекислоты, как и рН, не меняется довольно длительное время, тогда как Eh контрольной рыбы быстро увеличивается, что, естественно, и зависит от поглощения кислорода развивающейся гнилостной аэробной микрофлорой. Следовательно, Eh может служить одним из показателей качества рыбы (табл. 16).

Таблица 16

Изменение величины рН и Eh в процессе хранения вареной рыбы при температуре 20°

Проба мяса	Значения рН и Eh при продолжительности хранения в сутках									
	1		2		4		6		8	
	рН	Eh	рН	Eh	рН	Eh	рН	Eh	рН	Eh
Вареная тарань, хранившаяся в атмосфере углекислого газа	7,07	68	7,07	70	7,17	67	7,32	62	6,84	70
То же, контроль	7,08	68	7,00	79	6,85*	92	—	—	—	—

* Рыба испортилась.

Результаты определения рН, Eh и гН водных вытяжек мышечной ткани вареной рыбы до и после абсорбции углекислого газа, а также при хранении рыбы в углекислом газе показывают, что абсорбируемая мясом рыбы углекислота оказывает некоторое влияние на окислительно-восстановительные свойства среды. Величина гН водных вытяжек при абсорбции углекислоты мясом рыбы несколько снижается, что

характеризует усиление восстановительных условий среды. Стабилизация Eh при хранении вареной рыбы в атмосфере углекислого газа может, по нашему мнению, служить показателем угнетающего действия углекислоты на микрофлору.

АКТИВНОСТЬ ПРОТЕИНАЗ МЫШЕЧНОЙ ТКАНИ НЕКОТОРЫХ РЫБ И ВЛИЯНИЕ УГЛЕКИСЛОГО ГАЗА НА НЕЕ

Ферментативные процессы играют большую роль при хранении свежей рыбы, а также при созревании соленой рыбы и других рыбопродуктов. Но до настоящего времени эти процессы недостаточно исследованы [19, 138].

Первые исследования распада белков в животных тканях при автолизе были проведены Е. Сальковским [286], М. Якоби [259].

Хедин [250, 251, 252] установил наличие в тканях трех протеиназ, действующих в слабокислой, слабощелочной и щелочной среде. Дарнби [224] установил оптимум действия катепсина селезенки при рН 3,5—3,8.

Действие катепсина мышечной ткани изучено слабо. И. А. Смородинцев с сотрудниками [165, 166, 167, 168, 169] изучали активность ферментов при созревании мяса. Глубокого распада мышечной ткани при этом не обнаружено. Созревание мяса И. А. Смородинцев считает автолитическим процессом.

Катепсины различных тканей представляют собой весьма сложный комплекс ферментов, способных катализировать не только расщепление белков на сложные полипептиды, но и расщепление последних на аминокислоты.

Этот фермент у рыб исследован еще менее, чем у теплокровных животных. Катепсиновый комплекс включает, по крайней мере, четыре компонента; из них один похож на пепсин, другой — на трипсин, третий — на аминопептидазу, четвертый — на карбоксипептидазу. Оптимум действия его при рН 4—5.

А. В. Благовещенский [13] указывает, что Уткина-Любовцева и Степун, проводя в опытах *in vitro* сравнительные исследования свойств протеиназ в тканях различных животных, вывели кривую зависимости активности катепсина печени щуки от рН при действии соответствующей ферментной вытяжки на казеин. Благовещенский и Лбова изучали оптимумы рН при действии катепсина мышечной ткани судака и сома на различные субстраты. В. Н. Гольдштейн [30] исследовал активность катепсина в экстрактах печени, селезенки, почек различных животных, в том числе и карпа. Все эти исследования сравнительно-биохимического характера проводили с ферментными вытяжками в опытах *in vitro*, где субстратом были не собственные белки рыбы, а чужеродные белки (казеин, желатин, белок куриного яйца и т. д.).

Р. Я. Файнгерш указывает, что протеолиз в мышцах у убитой после вылова рыбы проходит менее интенсивно, чем в мышцах уснувшей рыбы.

А. А. Лазаревский [99] наблюдал слабую активность катепсина мышечной ткани карпа. То же явление наблюдала З. П. Успенская [180] при исследованиях с карпом и волжской сельдью (*Caspialosa kessleri volgensis*).

Значительный интерес представляют работы по изучению протеаз рыб, проведенные А. Д. Замысловым [64]. Автор детально исследовал протеолитические ферменты кишечника и пилорических отростков различных рыб, главным образом осетровых, а также катепсин мышеч-

ной ткани судака и сельди в связи с процессом созревания последней при посоле. А. Д. Замыслов установил, что основной процесс автопротеолиза в мышечной ткани рыбы обусловлен действием собственных протеолитических ферментов. Ферменты брюшных органов на протеолиз мышечной ткани оказывают слабое влияние.

Оптимум действия катепсина мышечной ткани рыб (судак, сельдь и др.) при действии на собственную ткань находится при pH 5,0.

Автолитический процесс в мышечной ткани сельди при pH 5 и концентрации соли 10—15% не прекращается, при 20% имеется снижение активности и при 25—26% в первые 4 дня автолиз не наблюдается.

Многолетняя технологическая практика показала, что скорость посмертных изменений у рыб, находящихся в одинаковых условиях хранения, зависит от вида. Если ткани таких рыб, как лещ, судак, треска и др., в течение довольно длительного периода не теряют своей упругой консистенции, являющейся одним из показателей сортности рыбы, то ткани сельди, сардины, хамсы, тюльки, шпрота в тех же условиях хранения размягчаются весьма быстро.

Указанные наблюдения позволяют предположить, что активность протеолитических ферментов различна у разных видов рыб. Это явление отчасти также отмечено Бейлеем с сотрудниками [199], которые нашли, что мышцы сравнительно малоактивных рыб (карап, треска) автолизируются медленнее, чем мышцы подвижных (макрель, мекриба, пелагида).

Различная активность протеолитических ферментов в известной мере определяет и некоторые различия в технологических свойствах рыб. Например, лещ, судак, треска сохраняются в охлажденном виде значительно дольше, чем сельдевые или анчоусовые, очевидно, потому, что скорость ферментативного распада белковых веществ, в результате которого создаются более благоприятные условия для развития гнилостных микроорганизмов, у первых ниже, чем у вторых.

В опытах хранения свежей рыбы — сардины, хамсы, тюльки, судака, леща и др., — проведенных автором с сотрудниками в разное время [108—112], обнаружена определенная взаимосвязь между скоростью посмертных изменений в рыбе, с одной стороны, и сроками ее сохранения как без консервантов, так и с консервантами и, в частности, с углекислым газом, с другой.

Для уточнения вопроса автором совместно с А. И. Минкиной и Е. В. Соколовой поставлены опыты по определению активности мышечных протеиназ леща, сельди и хамсы, а также по изучению влияния углекислого газа на эту активность [117].

В опытах мышечную ткань свежего леща, сельди и хамсы хранили при pH 4—5 (с добавлением ацетатного буфера) и при pH 6,9—7,0 (естественном) в атмосфере углекислого газа и на воздухе. Температура была 0 и 20°. В отдельных случаях испытывали целых рыб, интенсивность протеолиза определяли по нарастанию аминного азота в мышечной ткани рыб.

Из определения pH следует, что емкость буферных систем мышц исследованных рыб весьма велика, так как pH ацетатного буфера при добавлении его к мышечной ткани сдвигается в щелочную область. Углекислый газ повышает буферную емкость мышечной ткани и сдвигает pH мышц в кислую область. Динамика нарастания аминного азота в мышечной ткани леща представлена на рис. 12.

Как видно из приведенных данных, снижение pH в кислую сторону, повышение температуры и насыщение реакционной среды углекислым газом весьма значительно повышают интенсивность протеолиза.

В опытах с сельдью обнаружена более высокая активность мышечных протеиназ и активирующее действие вышеуказанных факторов проявляется еще значительно, чем в опытах с лещом (рис. 13). У хам-

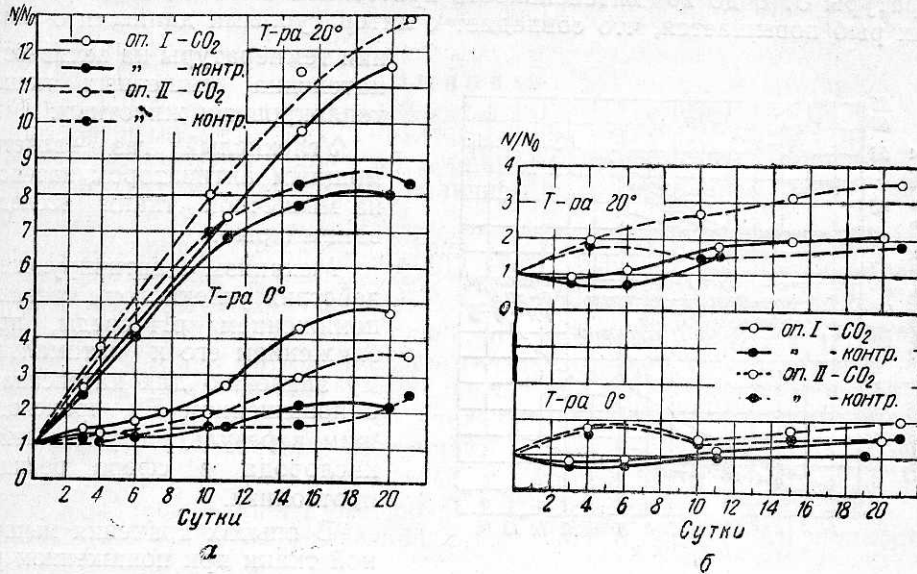


Рис. 12. Изменение содержания аминного азота в мышечной ткани леща при хранении в углекислом газе:

а — при pH 4—5 $N_0=16,1$ мг %; б — при pH 6,9—7 $N_0=17,92$ мг % (I опыт), $N_0=10,71$ мг % (II опыт).

сы (рис. 14) также низкий pH (кислая среда) и углекислый газ активируют протеолиз и способствуют большему накоплению аминного азота в течение опыта.

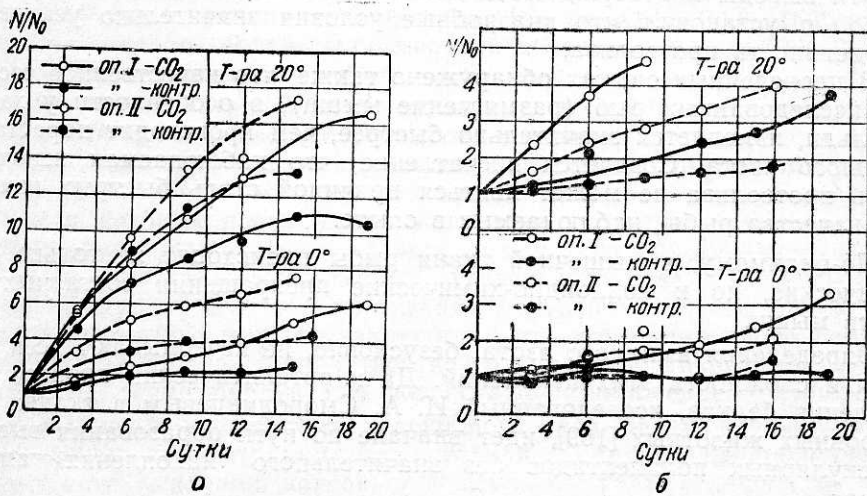


Рис. 13. Изменение содержания аминного азота в мышечной ткани сельди при хранении в углекислом газе:

а — при pH 4—5 $N_0=16,8$ мг % (I опыт), $N_0=11,9$ мг % (II опыт); б — при pH 6,5—7 $N_0=18,34$ мг % (I опыт), $N_0=13,37$ мг % (II опыт).

Как видно из результатов опытов, протеолитическая активность мышечной ткани леща, сельди и хамсы весьма различна. Катепсиновый комплекс мышц у леща значительно менее активен, чем у сельди и хамсы.

Оптimum действия катепсина исследованных пород рыб и тканей теплокровных животных лежит в кислой среде. При рН 4—5 интенсивность протеолиза выше, чем при рН 6,9—7,0. При повышении температуры от 0 до 20° интенсивность протеолиза в мышцах исследованных рыб повышается, что совпадает с литературными данными о влиянии

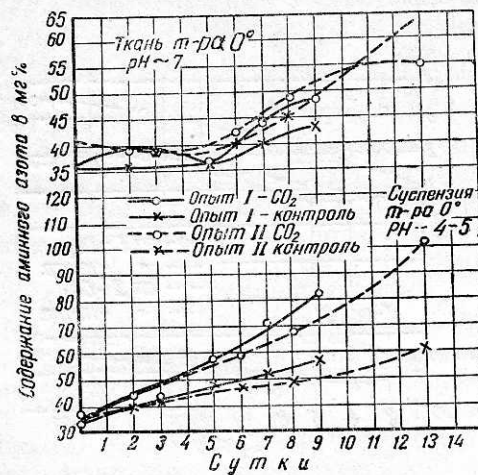


Рис. 14. Изменение содержания аминного азота в мышечной ткани хамсы при хранении в углекислом газе.

температуры на активность катепсина мышечных тканей теплокровных животных. Углекислый газ является мощным активатором катепсина на мышечной ткани исследованных рыб.

Механизм активирующего действия углекислоты связан с понижением рН среды, приближением его к оптимальному значению для катепсина и с повышением E_h , происходящим в результате уменьшения кислорода в сфере реакции протеолиза.

В опытах хранения мышечной ткани при пониженном рН абсорбированный углекислый газ уже не может далее снижать рН среды, однако протеолиз углекислотой активируется.

Следовательно, положительную роль в активировании протеолиза, при благоприятном для катепсина рН, играет понижение окислительного режима среды.

Эти выводы подтверждаются данными В. Палладина, который еще в 1889 г. установил, что анаэробные условия значительно усиливают интенсивность протеолиза. В проведенных опытах обнаружено также, что качественное состояние исследованных рыб (размягчение мышц), в особенности у хамсы и сельди, изменяется значительно быстрее, чем происходит нарастание аминного азота. Создается впечатление, что наблюдаемая интенсивность протеолиза не может явиться причиной столь быстрых изменений качества рыбы, наблюдаемых в опыте.

По-видимому, в мышечной ткани рыбы происходят не только биохимические, но и коллоидно-химические превращения составных веществ мышц.

Определения аминного азота, безусловно, не исчерпывают всей глубины и сложности этих изменений. Да и автолитический процесс расщепления белков, исследованный И. А. Смородинцевым в тканях теплокровных животных [169], идет вначале по пути образования высокомолекулярных полипептидов без значительного накопления аминокислот.

В наших опытах в процессе хранения свежей рыбы также, очевидно, происходило вначале расщепление мышечных белков на менее сложные, но еще достаточно высокомолекулярные полипептиды; процессы же более глубокого расщепления полипептидов до аминокислот развивались в последующей стадии протеолиза.

Это предположение косвенно подтверждается работами других исследователей. Так, М. С. Резниченко [151] обнаружил, что при действии протеиназ на раствор желатина происходит быстрое снижение вяз-

кости последнего, не сопровождающееся приростом аминного азота. Шерри и др. [289] установили, что разрушение коллагена под действием катепсина происходит в две стадии. Вначале белок изменяется до состояния геля, затем наступает ферментативный протеолиз его.

Выводы

1. Углекислый газ абсорбируется водой, жиром и белковыми веществами продукта. Величина абсорбции CO_2 продуктом определяется наряду с другими факторами наличием и соотношением вышеуказанных компонентов.

При абсорбции углекислого газа мясом рыбы происходят сложные физико-химические и биохимические процессы — частичное связывание углекислоты белковыми веществами и солями, повышение концентрации водородных ионов, т. е. сдвиг рН в кислую сторону, набухание мышечных клеток, нарушение осмотического равновесия и выделение тканевых соков из мышц, значительное увеличение буферности мышечного сока, повышение восстановительных свойств среды, стимулирование активности мышечных протеиназ.

Растворимость углекислого газа в мышцах рыбы — процесс в значительной степени обратимый, поэтому при десорбции углекислоты первоначальные свойства мышечной ткани (рН и др.) почти полностью восстанавливаются.

2. Факторами консервирующего действия углекислого газа, очевидно, являются повышенная растворимость углекислоты в жирах, нарушение проницаемости клетки, сдвиг рН в кислую сторону и увеличение буферности среды. Увеличенная буферность среды способствует сохранению рН на уровне, неблагоприятном для жизнедеятельности гнилостных микроорганизмов.

3. Теоретическое значение проведенных исследований, по нашему мнению, состоит в том, что вышеизложенная, хотя и далеко не полная, характеристика влияния углекислого газа на мышечную ткань рыбы дает возможность более глубокого понимания сущности консервирующего действия углекислого газа.

4. Из результатов экспериментальных исследований следует, что углекислый газ при достаточно высоком парциальном давлении должен угнетать жизнедеятельность разных групп микроорганизмов, что не исключает, конечно, возможности существования таких микроорганизмов, для которых среда углекислого газа является, наоборот, благоприятной.

5. Из свойств поглощаемости углекислого газа всеми основными компонентами продукта и повышения растворимости его при понижении температуры можно заключить, что консервирующее действие углекислоты должно проявляться не только на поверхностные, но и на глубинные ткани продукта и возрастать с понижением температуры.

6. Усиление воздействия углекислого газа на мышечную ткань с повышением концентрации газа позволяет сделать предположение о вероятности усиления консервирующего действия углекислоты с повышением парциального давления газа.

7. Действие углекислоты на осмотическое равновесие мышечной ткани рыбы аналогично действию повышенных концентраций NaCl , однако растворимость углекислоты в жирах, сдвиг рН в кислую сторону, повышение буферности среды — свойства, отличающие действие углекислоты от растворов NaCl .

Если вышеуказанные свойства углекислого газа совместить с увеличенным осмотическим давлением, например, в комбинации $\text{CO}_2 + \text{NaCl}$, то эффект угнетающего действия углекислоты на микроорга-

низмы должен повиситься. Следовательно, консервирующее действие растворов NaCl при насыщении углекислым газом должно усиливаться.

8. Свойство углекислого газа, растворенного в мышечной ткани рыбы, усиливать активность протеолитических ферментов может найти применение для ускорения созревания слабосоленых продуктов, копченостей и т. п.

9. Коэффициенты абсорбции углекислого газа могут быть использованы для технических расчетов при углекислотном хранении различных рыбопродуктов.

КОНСЕРВИРУЮЩИЕ СВОЙСТВА УГЛЕКИСЛОГО ГАЗА

Консервирующие свойства углекислого газа изучали многие исследователи.

В очень малых количествах углекислота стимулирует рост плесеней, однако повышение содержания ее в воздухе до 1% уже тормозит рост *Asp. niger* и других плесеней [6, 7, 284].

По данным Я. Я. Никитинского [132, 133, 134, 135], В. С. Загорянского [57, 58, 59], Н. И. Каюковой [76], Г. И. Журавского [56], Каллоу [214, 215], повышение содержания углекислого газа в воздухе до 10—20% и выше ведет к задержке роста большинства плесневых грибков.

При 80—90%-ной концентрации CO_2 почти нацело устраняется развитие большинства плесеней.

На многие бактерии углекислота действует бактериостатически, и с удалением газа они продолжают развиваться, на другие — бактерицидно, умерщвляя их; некоторые же виды, главным образом *V. typhosus*, оказываются по отношению к углекислоте стойкими.

Автотрофным бактериям (*Nitrosomonas*, *Nitrobacter* и др.) углекислота необходима как единственный и незаменимый источник углерода [21, 97]. Гетеротрофы также нуждаются для своего развития в углекислоте, из которой они используют группу $\text{C}=\text{O}$ [150].

Ф. М. Чистяковым [192] обнаружено угнетающее действие углекислоты 80 и 100%-ной концентрации на рост бактерий в твердых средах, однако полного прекращения развития большей части испытанных гнилостных бактерий им не наблюдалось. В жидких средах размножение гнилостных аэробов почти полностью подавляется. В опыте хранения мясопептонного бульона при комнатной температуре через 13 суток в образцах, насыщенных углекислым газом, количество аэробных и строго анаэробных форм микроорганизмов оказалось в десятки и сотни раз меньшим, чем в образцах, насыщенных воздухом или хранившихся на воздухе в течение 10 суток. Развитие тифозной палочки задерживается на 90%, паратифозной — на 50—60%. По данным Б. С. Алеева, развитие паратифозных бактерий подавляется углекислым газом очень сильно.

Большинство патогенных микробов переносит углекислоту в концентрациях от 10 до 30%.

Менингококки [276] лучше растут в атмосфере, содержащей 10—20% CO_2 . Стафилококки при посеве в 1%-ный агар в атмосфере, содержащей 10—20% CO_2 , более равномерно вырабатывают энтеротоксин, чем без CO_2 [1]. Дифтерийная палочка лучше растет при содержании 5—10% CO_2 .

По данным Киллефера, рост тифозной палочки в атмосфере углекислого газа, угнетаемый вначале весьма сильно, через 5 суток не отличается от роста в обычных условиях.

Палочка Гертнера в атмосфере углекислого газа замедляет рост и токсинообразование, однако при длительном выращивании микроба