

На правах рукописи

ЧИБИРЯК ЛЮДМИЛА МИХАЙЛОВНА

ОБОСНОВАНИЕ ТЕХНОЛОГИИ ПОЛУЧЕНИЯ
АНТИОКИСЛИТЕЛЬНОГО ПРЕПАРАТА РАСТИТЕЛЬНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ
И ЕГО ПРИМЕНЕНИЕ ПРИ ПРОИЗВОДСТВЕ СОЛЕННОЙ ПРОДУКЦИИ ИЗ ЛОСОСЕВЫХ

Специальность 05.18.04 – технология мясных, молочных
и рыбных продуктов

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата технических наук

Л. Чибиряк

Владивосток – 2000

Работа выполнена в Тихоокеанском научно-исследовательском рыбохозяйственном центре ГУП «ТИНРО-центр».

Научные руководители: доктор технических наук, профессор
Т.Н. Слуцкая
кандидат химических наук, ст.н.с
А.Д. Чумак

Официальные оппоненты: доктор технических наук, профессор
В.М. Дацун
кандидат технических наук, доцент
Л.В. Левочкина

Ведущая организация ОАО «Владивостокский рыбокомбинат»

Защита диссертации состоится "28" июля 2000 г. в 10 ч на заседании диссертационного совета К. 117.08.03 Дальневосточного государственного технического рыбохозяйственного университета по адресу: 690600, Владивосток

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Дальневосточного государственного технического рыбохозяйственного университета

Автореферат разослан "27" июля 2000 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета,
кандидат технических наук, доцент

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. Проблема замедления окисления липидов является одной из самых актуальных в пищевой промышленности, поскольку в результате окислительной деструкции липидов сырье и продукция из него теряют качество, становятся непригодными для использования и часто токсичными для потребителя.

Особенно остро встает проблема при обработке морских гидробионтов, в состав липидов которых входят полиненасыщенные жирные кислоты (Gardner, 1979; Frankel, 1980; Buc Calderon, Roberfroid, 1988). При хранении соленых лососевых процесс окисления ведет к потере качества продукции из-за появления неприятного вкуса и запаха, разрушения астаксантина – основного красящего пигмента мышечной ткани, – образования бурых пигментов на поверхности брюшной полости и кожных покровов (Эмануэль, Лясковская, 1961; Ржавская, 1981).

Для предохранения пищевых продуктов от окислительной деструкции применяют антиоксиданты, масштабы использования которых в последнее десятилетие возрастают (Булдаков, 1996). Большинство из них являются синтетическими, и в ряде стран появились ограничения по их внесению в готовую продукцию, так как установлены побочные действия на организм потребителя (Pin-DerDuh, Gow-Chin Yen, 1997). Кроме того, в применении к технологии соленых рыбных продуктов недостатком большинства из них, в том числе известного в нашей стране ионола, является нерастворимость в тузлуках, что затрудняет их использование (Сейфула, Борисова, 1990).

Поэтому представляет научный и практический интерес поиск антиоксидантов из природных источников, которые содержат активные компоненты различной полярности, безвредны и могут быть эффективными при стабилизации такой гетерогенной системы, как рыба и рыбная продукция, в том числе соленая.

Считается, что наиболее перспективным источником таких антиоксидантов являются растения (Kim et al., 1994; Tamura, Hamagami, 1994), в том числе произрастающие на Дальнем Востоке представители рода *Lespedeza* (Максимов и др., 1990, 1998; Шретер, 1992), из которых производят препараты, обладающие диуретическим, противовирусным и другими действиями (Машковский, 1986; Гуляев, Трумпе, 1994; Гуляев и др., 1995).

Широко распространенным и относительно изученным видом является *L. bicolor*, немаловажно также, что природные запасы ее велики и возможно культивирование (Павлова, 1983).

Учитывая, что лососевые в общем объеме добычи гидробионтов в России занимают второе место после минтая, а количество слабосоленой продукции из них неуклонно возрастает, представляется актуальным исследование возможности получения и применения природных антиоксидантов в технологии обработки этого ценного вида сырья.

Цель и задачи исследований. На основании вышеизложенного целью настоящей работы являются разработка технологии получения антиокислительного препарата растительного происхождения и обоснование его применения при производстве слабосоленой продукции из лососевых.

Для достижения поставленной цели последовательно решались следующие задачи:

- разработать технологию производства антиокислительного препарата растительного происхождения, обосновав выбор сырья, экстрагента (его концентрации), гидромодуля и продолжительности экстракции при разных температурах процесса;
- модифицировать некоторые методы определения показателей окисления (малонового диальдегида, карбонильных соединений и др.) применительно к мышечной ткани соленых лососевых;
- исследовать состав и свойства антиокислительного препарата, провести сравнение его активности с известными антиоксидантами на модельных системах, а также при хранении экспериментальных и производственных партий соленых лососевых;
- обосновать условия и сроки хранения антиокислительного препарата;
- установить необходимую и достаточную дозу антиокислительного препарата, обеспечивающую замедление окислительной деструкции при посоле нерки и горбуши и последующем хранении;
- исследовать физико-химические, органолептические и санитарно-гигиенические показатели слабосоленой продукции из лососевых, произведенной с применением антиокислительного препарата, и установить предельный срок ее хранения.

Научная новизна. Обоснованы рациональные технологические параметры получения препарата "Лестин-1" из *Lespedeza bicolor* (экстрагент и его концентрация, гидромодуль, температура и продолжительность экстракции), а также определены условия и сроки хранения сырья, обеспечивающие максимальные выход и активность препарата.

С использованием тонкослойной хроматографии, высокоэффективной жидкостной хроматографии и УФ-спектроскопии показано, что в состав «Лестина-1» входят не менее шести соединений, близких по строению к флавоноидам, на основании чего препарат отнесен к антиоксидантам, действующим по антирадикальному механизму.

Проведено сравнительное исследование «Лестина-1» и других антиоксидантов как в модельных системах, так и при хранении соленой рыбной продукции и выявлена его более высокая активность.

Разработаны и предложены методы определения содержания вторичных продуктов окисления и показана зависимость качественных показателей продукции от их количества. Найдена корреляционная связь между накоплением малонового диальдегида и содержанием кар-

бонильных соединений в мышечной ткани соленых лососевых при хранении. Установлена обратная зависимость между накоплением малонового диальдегида и содержанием астаксантина.

Научно обоснована возможность замедления окислительных процессов при хранении соленых лососевых; показано, что применение антиокислительного препарата "Лестин-1" существенно снижает количество вторичных продуктов окисления и способствует сохранности основного пигмента лососевых – астаксантина.

Обосновано рациональное количество «Лестина -1» при производстве и хранении слабосоленой продукции из лососевых, установлено, что применение антиокислительного препарата способствует длительному сохранению качественных показателей продукции.

Практическая значимость работы. Разработана технология получения антиокислительного препарата из побегов леспедецы двухцветной («Лестин-1»).

Предложена технология применения пищевой антиокислительной добавки «Лестин-1» при посоле соленых лососевых.

Разработана и утверждена нормативная документация на заготовку побегов леспедецы двухцветной:

ТУ 9769-183-00472012-2000 «Побеги леспедецы двухцветной заготавливаемые»;

ТИ № 36-172-2000 по изготовлению побегов леспедецы двухцветной заготавливаемых.

Разработаны проекты нормативной документации:

«Экстракт из леспедецы двухцветной «Лестин-1». Пищевая антиокислительная добавка»: ТУ и ТИ;

«Лососи дальневосточные специального законченного посола»: ТУ и ТИ.

Реализация результатов исследований. Выпуск опытных и опытно-промышленных партий продукции с применением пищевой антиокислительной добавки «Лестин-1» был произведен на предприятиях дальневосточного бассейна в 1989–1998 гг.

Продукция получила одобрение на дегустационных совещаниях ТИПРО-центра в 1998–1999 гг.

Апробация работы. Материалы диссертации были представлены на:

Всесоюзной научно-технической конференции «Совершенствование технологических процессов производства новых видов пищевых продуктов и добавок. Использование вторичного сырья пищевых ресурсов» (Киев, 1991 г.); конференции молодых ученых ТИПРО (Владивосток, 1993 г.); юбилейной научной конференции Дальневосточного государственного института рыбной промышленности (Владивосток, 1996 г.); Международном симпозиуме «Питание XXI века: медико-биологические аспекты, пути оптимизации» (Владивосток, 1999 г.); 2-м Международном симпозиуме «Ресурсосберегающие технологии в аквакультуре» (Краснодар, 1999 г.); Ученых советах ТИПРО-центра в 1990–1999 гг.

Публикации. По теме диссертационной работы опубликовано 15 работ, в том числе патент № 2120761, приоритетная справка от 01.08.97 г.

Объем и структура диссертации. Работа состоит из введения, 3 глав, выводов, списка использованной литературы и приложений. Работа изложена на 131 с. основного текста, содержит 32 таблицы, 25 рисунков и 10 приложений. Список литературы включает 119 наименований отечественных и зарубежных авторов. Приложения составляют 35 с., содержат нормативные документы, акты дегустационных советов, акты выпуска опытно-промышленных партий слабосоленой рыбной продукции.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Введение. Обоснована актуальность темы, сформулирована цель исследования, намечены пути ее достижения.

Обзор литературы. Проведен анализ современной научной и патентной литературы по теме исследования и выявлено, что для предохранения от окислительной деструкции продуктов из гидробионтов, в том числе слабосоленых лососевых, наиболее целесообразным является применение антиоксидантов. Обсужден механизм окисления липидов и показано, что этот процесс при производстве пищевой продукции можно замедлить с помощью антиоксидантов растительного происхождения, относящихся согласно приведенной классификации к веществам, связывающим свободные радикалы. Часть обзора посвящена способам получения подобных препаратов из растений рода *Lespedeza*, характеристике их свойств, а также описанию продуктов из них, относящихся к лечебным. Теоретически проанализированы возможности взаимодействия активных компонентов экстрактов из *Lespedeza* с продуктами окисления липидов лососевых и сделано заключение о целесообразности данного исследования.

Объекты и методы исследования. Сырьем при обосновании технологии получения антиокислительного препарата «Лестин-1» являлись побеги *Lespedeza*, а также ее кора.

Разрабатываемая технология получения препарата включала измельчение, экстрагирование, фильтрование. При этом устанавливали влияние соотношения сырья и экстрагента (использовали 45–96 %-ный этиловый спирт и воду), продолжительности и температуры экстракции, условий хранения препарата на его антиокислительную активность. Изучались следующие соотношения сырье/экстрагент: 1:1; 1:2; 1:3; 1:4, а также продолжительность экстракции при температурах $78 \pm 0,5$ °C (1–20 ч) и 20 ± 2 °C (1–20 сут).

Оценку эффективности технологических параметров проводили определением выхода антиокислителя в процентах к исходному или в миллиграммах на миллилитр экстракта и антиокислительной активности по методу, описанному в литературе (Jaugaman et al., 1976; Rhee

et al., 1981), с некоторыми изменениями (Чумак и др., 1987). Антиокислительную активность препарата выражали в ионольных эквивалентах (ИЭ), предложенных нами (Чумак и др., 1999). Один ионольный эквивалент соответствует антиокислительной активности 1 мг ионола. Для выбора рациональных условий при получении антиокислителя использовали показатель «относительная активность», определяемый как произведение массы сухого остатка на активность препарата (ИЭ).

Для установления некоторых физико-химических свойств препарата антиокислительного действия использовали методы тонкослойной хроматографии (Ахрем, Кузнецова, 1964; Кирхнер, 1981).

Исследование препарата осуществляли с целью обнаружения соединений фенольной природы (Rhee et al., 1981), сахаров с помощью реакции Молиша с α -нафтолом в серной кислоте (Методы химии углеводов, 1967). Фракционирование экстракта леспедецы проводили на колонках с тefлоновым порошком «Полихром-1», в градиенте вода – изопропиловый спирт. Высокоэффективную жидкостную хроматографию экстракта леспедецы выполняли на хроматографе «Shimadzu-LC9A» на колонке с обращенной фазой ODS (C18) в линейном градиенте вода – изопропиловый спирт. Детектирование осуществляли на всеволновом детекторе SPD-M6A в ультрафиолетовой и видимой областях спектра. Исследование сырья на пестициды проводили по МУ 2142-80 и МУ 4274-88. Исследование сырья и препарата на радионуклиды – по методикам экспрессного определения радионуклидов.

Объектами исследования при разработке технологии применения антиокислительного препарата «Лестин-1» являлись горбуша (*Oncorhynchus gorbuscha*), выловленная у берегов Камчатки и южных Курильских островов, и нерка (*Oncorhynchus nerka*), выловленная у берегов Камчатки, в свежем или мороженом виде.

Действие препарата «Лестин-1» сравнивали с влиянием таких антиокислительных добавок, как ионол, пропилгаллат, ингибитор протеолиза из картофеля, этоксихин, трилон Б, цитрат натрия, смесь трех- и двухзамещенных солей цитрата натрия, метабисульфит натрия, смесь сульфита и метабисульфита натрия, виннокислый калий, а также с бензоатом натрия в качестве антимикробного препарата.

Образцы бочковой рыбной продукции готовили по действующей технологической инструкции к ТУ 9262-066-00472012, в экспериментальные партии добавляли тузлук с антиокислительным препаратом «Лестин-1».

Исследование химического состава тканей горбуши и нерки (вода, белок, липиды, хлорид натрия) проводили согласно общепринятым методикам (Лазаревский, 1955).

Анализ содержания токсичных металлов в тканях горбуши, а также в побегах леспедецы двухцветной и препарате «Лестин-1» осуществляли методом атомно-абсорбционной

спектрофотометрии на приборе фирмы «Nippon Jarret Ach», модель AA-885. В качестве атомизатора использовали одношелевую горелку и пламя ацетилен-воздух. Применяли стандартные растворы элементов, прошедших государственную проверку и включенных в реестр (Славин, 1971).

Микробиологические исследования в процессе производства и хранения слабосоленой продукции из лососевых проводили согласно нормативным руководствам по микробиологическому анализу и проверяли ее соответствие гигиеническим нормам.

Изменение консистенции в процессе хранения приготовленной продукции характеризовали по показателю степени пенетрации на полуавтоматическом пенетрометре конструкции В.Д. Косого с соавторами (А.с. № 731373, 1980).

Количество основного каротиноидного пигмента тканей лососевых – астаксантина – определяли с помощью коэффициента молекулярной экстинкции (Ржавская, Меняева, 1981).

Органолептическую оценку качества продукции из дальневосточных лососевых производили по пятибалльной шкале в соответствии с рекомендациями Т.М. Сафроновой (1985, 1998).

Статистическая обработка результатов различных экспериментов включала определение средних значений величин и стандартной ошибки средней. Достоверность различий между средними величинами оценивалась с помощью критерия Стьюдента (Урбах, 1962). Статистическую обработку результатов проводили с помощью пакета статистических программ «Master Statistics» для ПЭВМ. Основой для составления программ служили руководство по статистике в аналитической химии и методы математического планирования экспериментов (Доерфель, 1969; Грачев, 1979).

Для графического изображения изменений различных показателей, а также для построение корреляционных кривых и калибровочных графиков применяли программный пакет «Microsoft Excel».

Общая схема проведения исследований представлена на рис. 1.

Модификация метода определения антиокислительной активности препарата и показателей окисления при хранении соленой рыбной продукции

Для определения антиокислительной способности препарата, действие которого проявляется при хранении соленой рыбной продукции, использовался метод определения содержания малонового диальдегида (МДА). Суть модификации состояла в окислении липидов мышечной ткани горбуши в присутствии хлорида натрия путем использования смеси солей железа Fe^{2+}/Fe^{3+} , а также в том, что определение МДА проводили непосредственно в ткани с тиобарбитуровой кислотой (Чумак и др., 1992). Определение карбонильных соединений проводили по модифицированному нами методу (Чумак и др., 1989), основанному на реакции с 2,4-динитрофенилгидразином в спирто-гексановом (с добавлением концентрированной со-

Общая схема проведения исследований

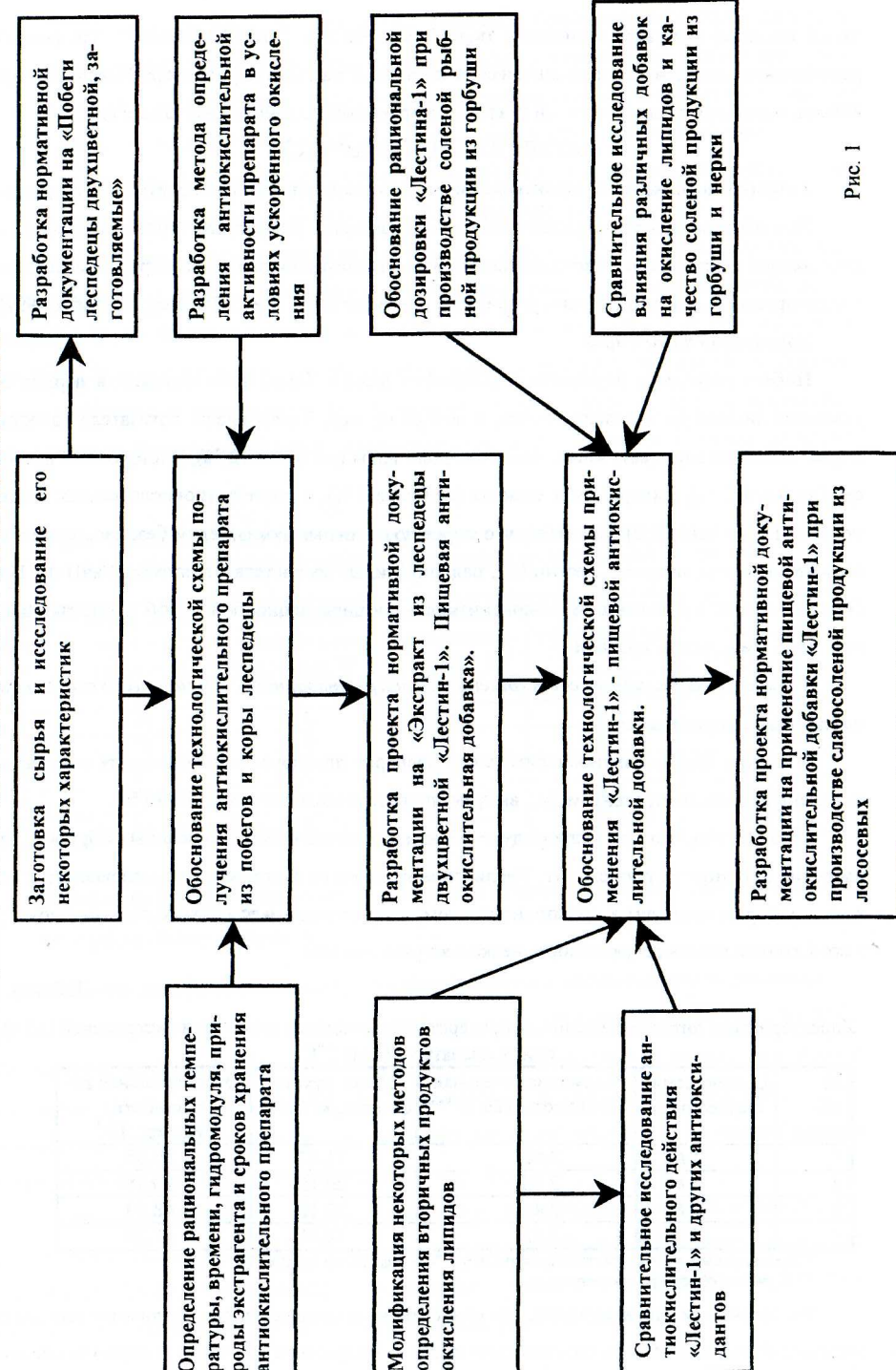


Рис. 1

ляной кислоты) экстракте мышечной ткани. Количество карбонильных соединений рассчитывали после измерения оптической плотности на спектрофотометре Hitachi-330 при 450 нм, используя градуировочный график, построенный по дециловому альдегиду.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Разработка технологии производства антиокислительного препарата из леспедецы

При обосновании технологической схемы получения экстрактов из побегов леспедецы двухцветной использовали рекомендованный порядок операций: заготовка сырья, измельчение, экстрагирование, отделение осадка, упаривание (Пешкова и др., 1997; Штайнер, Коломби, 1997).

Характеристика сырья

Побеги леспедецы двухцветной (*Lespedeza bicolor Turcz*) заготавливали в период от усыхания листьев до появления почек, с ноября по май. Установлены показатели качества сырья: внешний вид, цвет, запах, массовые доли воды (не более 12 %), посторонних примесей (не более 3 %), минеральных веществ (не более 7 %), а также антиокислительная активность в ИЭ (не менее 1,0). Показано, что сырье по основным показателям безопасности (токсичные элементы, нитраты, пестициды, радионуклиды) соответствует нормам СанПиН. Побеги леспедецы (в дальнейшем – сырье) измельчали циркуляционной пилой на отрезки длиной 10-20 мм и экстрагировали.

Установление влияния соотношения сырье/растворитель и природы экстрагента на извлечение препарата

В связи с тем что антиокислительный препарат планируется использовать в качестве пищевой добавки, экстрагентом был выбран спирт этиловый питьевой (95-96 %).

Установлено, что при гидромодуле 1:1 измельченные побеги леспедецы набухают, извлечения при этом не происходит. Увеличение количества экстрагента по отношению к исходному сырью приводит к пропорциональному возрастанию массы сухого остатка (табл. 1), а его антиокислительная активность несколько уменьшается.

Таблица 1

Характеристика антиокислительных препаратов, полученных спиртовой экстракцией (15 ч) при температуре $78 \pm 0,5$ °С

№ образца	Соотношение сырье/спирт	Антиокислительная активность, ИЭ 10^{-1} **	Масса сухого остатка, мг/мл**	Относительная активность, усл. ед. 10^{-1}
1	1 / 2	2,62	11,47	30,05
2	1 / 3	2,50	20,15	50,38
3	1 / 4	2,42	20,12	48,69
4	1 / 3*	3,32	12,41	41,20

* Хранение сырья 1 год при температуре 20 ± 5 °С и влажности воздуха 78 %

** С учётом объёма растворителя

Из полученных данных видно, что относительная активность при различных вариантах экстракций наибольшая при соотношении сырья и экстрагента 1:3, что и послужило основа-

нием для выбора этого варианта экстракции. Несколько более высокая антиокислительная активность в экстракте из хранившегося сырья объясняется потерей воды сырьем при хранении. Однако на относительную активность хранения повлияло не столь существенно, из чего можно заключить, что сырье можно хранить при указанных условиях не менее года.

В результате проведенных исследований, разработана и утверждена нормативная документация на «Побеги леспедецы двухцветной заготавливаемые».

Сравнительное исследование возможности извлечения антиокислительного препарата из леспедецы спиртовыми растворами различной концентрации с применением дробной экстракции, а также просто водой при обоснованном соотношении сырья и растворителя показало (табл. 2), что самой высокой антиокислительной активностью характеризуется препарат, полученный при использовании 96 %-ного этилового спирта. При этом однократная экстракция отличается более высокой результативностью, что послужило основанием для ее выбора.

Таблица 2

Характеристика антиокислительных препаратов, полученных экстракцией (15 ч) с использованием водно-спиртовых растворов различной концентрации

№ образца	Содержание спирта в экстрагенте, %	Температура кипения растворителя, °С	Антиокислительная активность, ИЭ 10^{-1}	Масса сухого остатка, мг/мл	Относительная активность, усл. ед. 10^{-1}
1	96	78	2,50	20,15	50,38
2	80	78,8	2,34	19,9	46,57
3	70	79,8	2,16	19,5	42,12
4	45	81,6	1,80	18,6	33,48
5*	0	100	1,08	13,7	14,79
6**	70, 80, 90	79,8; 78,8; 78,0	2,15***	20,49***	44,05

* Водная экстракция.

** Суммарная последовательная дробная экстракция с различными концентрациями спирта (продолжительность каждой стадии – 5 ч).

*** С учётом объёма растворителя

Установление рациональных продолжительности и температуры экстракции

Использовали «горячую» и «холодную» экстракции (соответственно $78 \pm 0,5$ и 20 ± 2 °С). Температуры нагревания обосновывались предварительными экспериментами, при горячей экстракции ($40-79$ °С) и холодной ($5-35$ °С) сопровождаемыми определением выхода и активности препарата. Исследования с применением холодной экстракции проводили с целью создания более экономичного технологического процесса.

Установлено (рис. 2 и 3), что самой высокой относительной активностью характеризуется препарат после 15-часовой горячей экстракции; увеличение продолжительности экстракции до 17,5–20,0 ч сопровождается некоторым снижением величины этого показателя, поэтому продолжительность экстракции 15 ч принята рациональной.

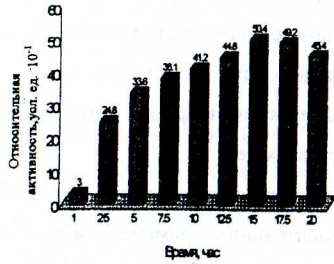


Рис. 2. Зависимость относительной активности препарата от времени экстракции при температуре 78±0,5 °C

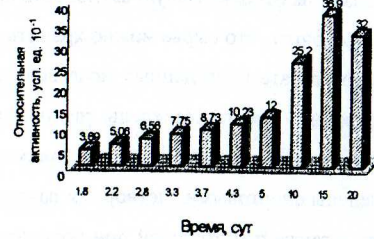


Рис. 3. Зависимость относительной активности препарата от времени экстракции при температуре 20±2 °C

Сравнение полученных экспериментальных данных позволяет заключить, что экстрагирование при температуре 20±2 °C в течение 15 сут приводит к тем же результатам, которые получены при горячей экстракции в течение 7,5 ч, после чего активность уменьшается (рис. 3).

Установлено, что при идентичных условиях экстракции активность препарата из коры леспедецы в 1,3–1,5 раза выше, чем из побегов в целом, однако отмечена высокая трудоемкость ее сбора.

Обоснование сроков и условий хранения антиокислительного препарата из леспедецы двухцветной

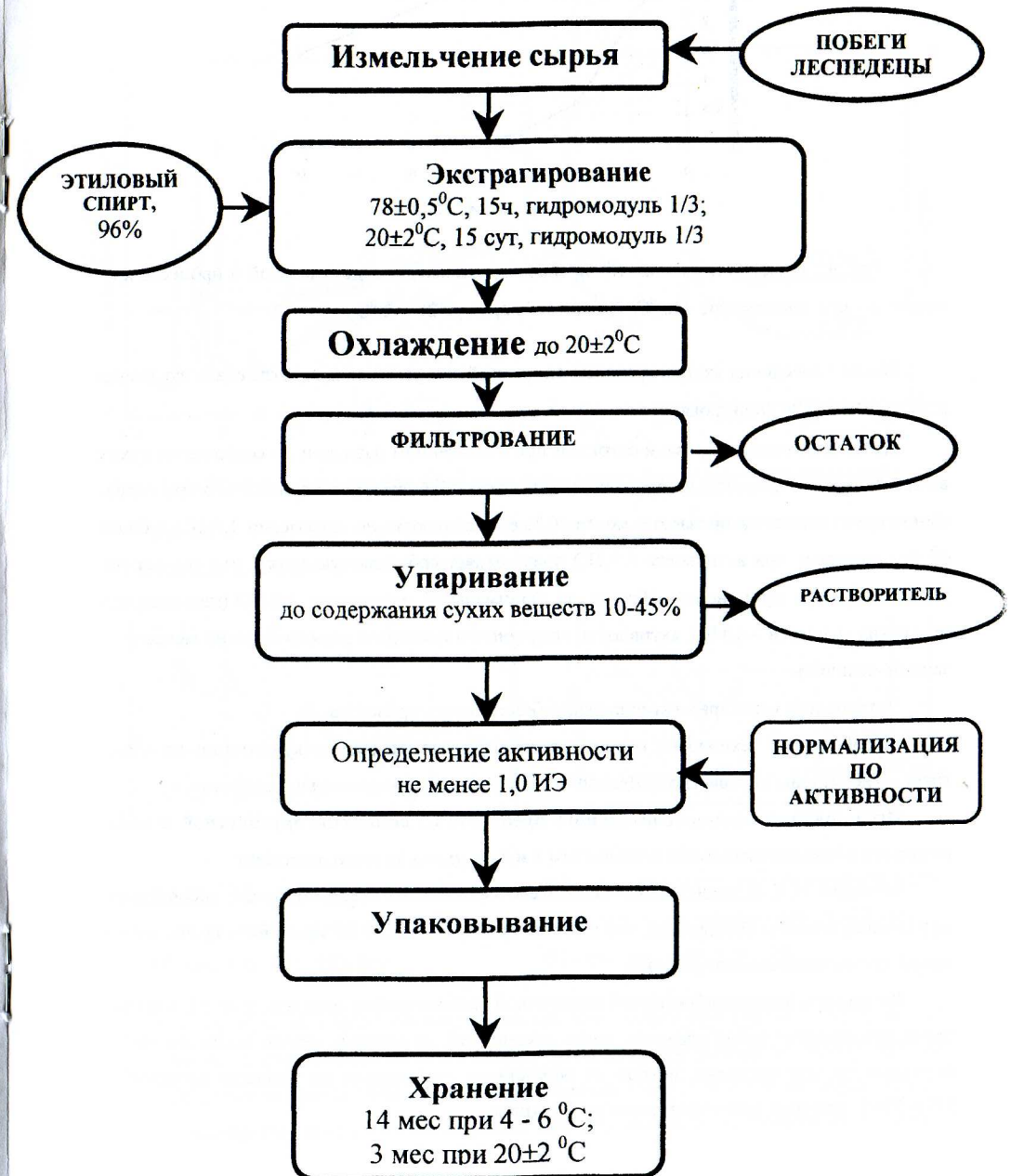
С целью повышения антиокислительной активности препарата проводили удаление растворителя путем упаривания до содержания сухих веществ 10–45 %.

Результаты проведенных исследований (рис. 4) показывают, что при хранении экстракта из леспедецы при температуре 4–6 °C в первые 6 мес хранения активность препарата существенно не изменялась, после чего постепенно уменьшалась. При этом препарат продолжал оставаться активнее ионола в 1,6 раза даже после 14 мес хранения. Хранение экстракта при 20±2 °C показало, что его антиокислительная активность после 3 мес хранения выше, чем активность ионола.

Технологическая схема получения антиокислительного препарата из леспедецы и некоторые физико-химические и гигиенические показатели

На основании проведенных исследований разработана технологическая схема получения экстракта из леспедецы двухцветной, который получил название «Пищевая антиокислительная добавка «Лестин-1».

СХЕМА ПОЛУЧЕНИЯ ПИЩЕВОЙ АНТИОКСИДАНТНОЙ ДОБАВКИ «ЛЕСТИН-1»



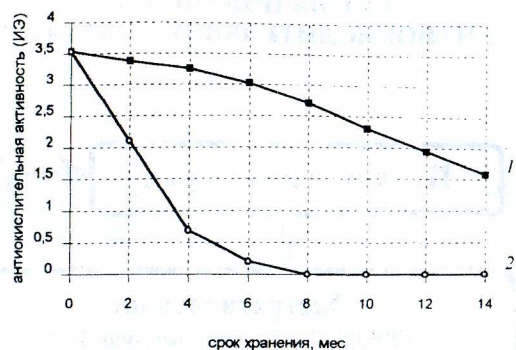


Рис. 4. Изменение активности препарата из леспедецы двухцветной в процессе хранения: 1 – при температуре 4–6 °C; 2 – при температуре 20 ± 2 °C

После проведения экстрагирования спиртовой экстракт сливали, охлаждали до температуры 20 ± 2 °C и фильтровали.

Далее его концентрировали отгонкой при пониженном давлении до содержания сухих веществ 10–45 %. Специально проведенными исследованиями установлено, что при содержании сухих веществ в препарате менее 10 % его активность не превышает 1,0 ИЭ, а более 45 % – препарат при активности 3,5 ИЭ представляет собой вязкую массу, что создает неудобства при его применении. Исходя из минимальной активности 1,0 ИЭ (при содержании сухих веществ – 10 %), активность полученного препарата должна быть не менее указанной величины.

Установлена санитарно-гигиеническая безопасность препарата.

Разработанная технология нашла отражение в нормативной документации на «Экстракт из леспедецы двухцветной "Лестин-1". Пищевая антиокислительная добавка».

Исследование антиокислительного препарата из леспедецы двухцветной и сравнение его антиокислительной активности с известными антиоксидантами

Методом ТСХ на закрепленном силикагеле в системе этилацетат–толуол с добавлением муравьиной кислоты обнаружено, что в состав препарата входят не менее пяти групп соединений антиокислительного действия.

Результаты высокоэффективной жидкостной хроматографии показали (рис. 5), что препарат представляет собой сложную смесь соединений, из которых можно выделить шесть основных по концентрации, исходя из результатов определения их площади детектором SPD- M6A, которые можно разделить на 2 группы:

первая (более полярная – пики 1, 2, 3) – смывается при концентрации 10–20 % изопропанола;
 вторая (менее полярная – пики 4,5,6) – смывается при более высокой концентрации – 40–50 %.

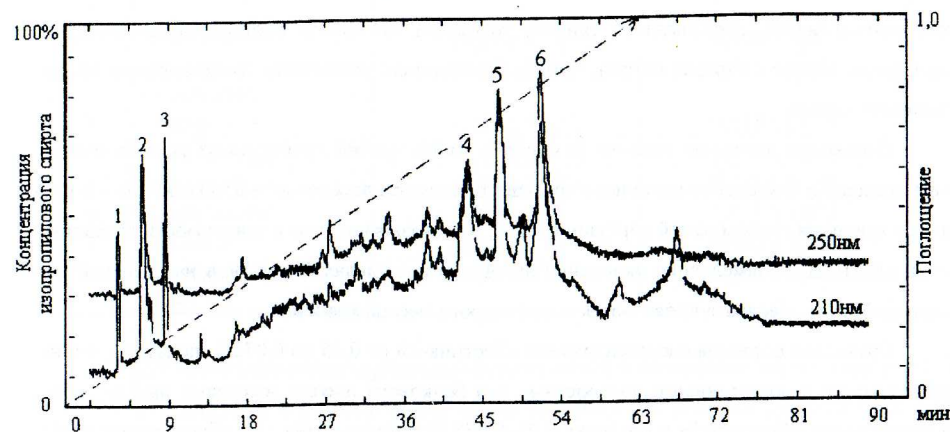


Рис. 5. ВЭЖ-хроматограмма концентрированного элюата в градиенте концентраций

Для двух из них (пики 3, 6), наиболее разрешенных (т.е. наиболее чистых соединений) с помощью детектора, получены УФ-спектры (рис. 6, 7).

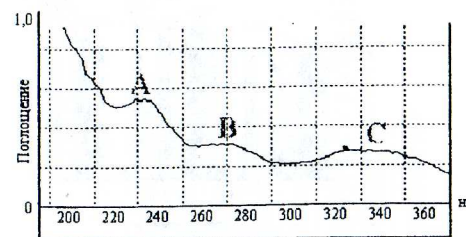


Рис. 6. УФ-спектр хроматографического пика с временем удерживания 9 мин (UV max nm : 245, 280, 340)

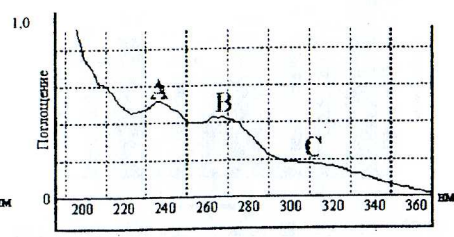


Рис. 7. УФ-спектр хроматографического пика с временем удерживания 51,75 мин (UV max nm : 248, 278, 320)

Как видно, можно выделить следующие области: полоса при 230–260 нм (А), которая указывает на присутствие ароматического ядра флавоноидного фрагмента; полоса при 260–290 нм (В), которая принадлежит еноновой группировке – C=C – C=O флавоноидного фрагмента (Сильверстейн и др., 1997) и возникает при увеличении цепи сопряжения с аромати-

кой; полоса при 320–360 нм (С), наличие которой связано с хромофором, состоящим из ароматического кольца, сопряженного с карбонильной группой (Бриттон, 1986).

На основании полученных данных сделано заключение, что полифенольные соединения препарата можно отнести к классу флавоноидов. Сравнительное исследование в модельных экспериментах антиокислительной добавки «Лестин-1» и ряда известных антиоксидантов (ионол, пропилгаллат, таннин, этоксихин, ингибитор протеолиза из картофеля, сульфиты, цитрат и тартрат натрия, трилон Б) позволило установить более высокую эффективность первой.

Данные по изучению влияния различных концентраций препарата на степень окисления липидов и сохранение основного красящего пигмента лососевых – астаксантина – в процессе хранения слабосоленой горбуши (рис. 8, 9) показывают, что в зависимости от количества «Лестина-1» замедление окисления находится в пределах 19–58 %; в наибольшей степени действие препарата проявляется после второго месяца хранения.

Сравнение образцов с концентрацией «Лестина-1» от 0,05 до 0,075 % показало, что необходимыми и достаточными дозировками для бочкового посола лососевых рыб являются концентрации «Лестина-1» в пределах 0,05–0,075 % к массе рыбы, что обеспечивает достаточную степень замедления окисления липидов мышечной ткани, а также способствует сохранности астаксантина при хранении соленой горбуши.

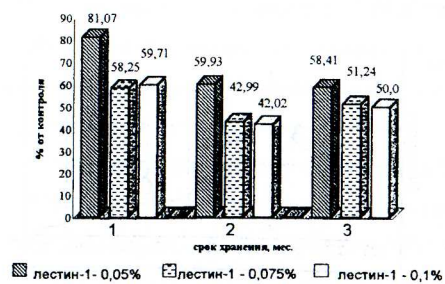


Рис. 8. Содержание малонового диальдегида в тканях соленой горбуши, % от контроля

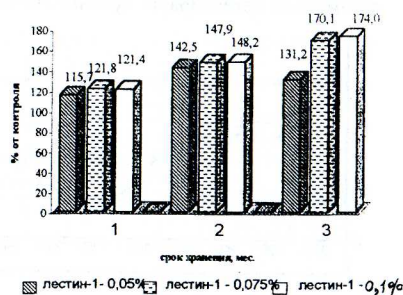


Рис. 9. Содержание астаксантина в тканях соленой горбуши, % от контроля

Исследование влияния различных добавок на окисление липидов и качество слабосоленой продукции из горбуши

В производственных условиях, была заготовлена и исследована опытная партия горбуши законченного посола с содержанием соли 6–8 %, с теми же добавками, которые были испытаны ранее (табл. 3).

Таблица 3

Содержание карбонильных соединений и малонового диальдегида в образцах горбуши после 6 мес хранения, мг/100г ± σ

№ образца	Антиокислитель	Содержание карбонильных соединений	Содержание МДА
1	Контроль	30,29 ± 2,12	0,118 ± 0,002
2	Ингибитор протеолиза из картофеля	21,25 ± 0,96	0,064 ± 0,003
3	Лестин-1	15,17 ± 1,37	0,044 ± 0,004
4	Бензоат натрия	28,54 ± 2,01	0,089 ± 0,007
5	Тартрат калия	29,30 ± 1,75	0,097 ± 0,007
6	Цитрат калия	16,50 ± 0,50	0,052 ± 0,005
7	Трилон Б	23,97 ± 1,92	0,080 ± 0,007
8	Метабисульфит натрия	26,55 ± 2,39	0,089 ± 0,004

Определение количества карбонильных соединений и малонового диальдегида (табл. 3, рис. 10, 11) показало, что применяемые в производственных условиях добавки оказывают существенное влияние на степень окисления липидов соленой рыбы.

Особого внимания заслуживают добавки, содержащие цитрат калия (№ 6) и «Лестин-1», накопление карбонильных соединений и малонового диальдегида в которых меньше, чем в контрольных, соответственно на 42 и 63 %.

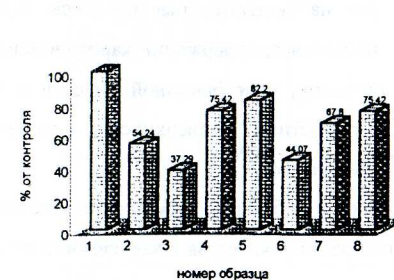


Рис. 10. Содержание карбонильных соединений в тканях соленой горбуши, % от контроля

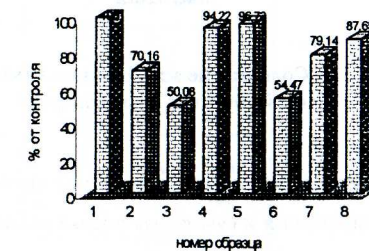


Рис. 11. Содержание малонового диальдегида в тканях соленой горбуши, % от контроля

На основании полученных данных установлена корреляционная зависимость между содержанием карбонильных соединений и малонового диальдегида с коэффициентом регрессии $r = 0,96$ (рис. 12), что позволяет с высокой степенью достоверности при определении одного из показателей судить об уровне другого.

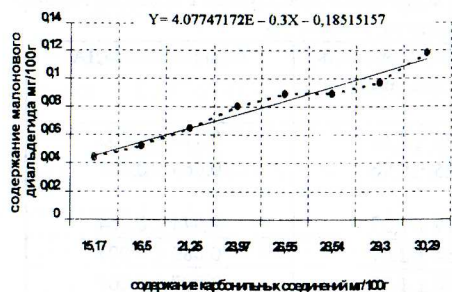


Рис. 12. Зависимости количества карбонильных соединений от концентрации малонового диальдегида

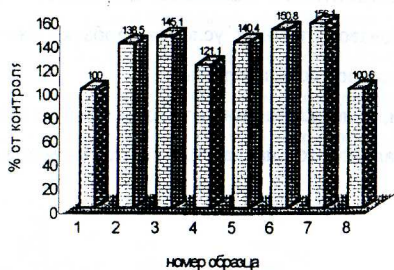


Рис. 13. Содержание астаксантина в тканях соленой горбуши, % от контроля

В результате органолептической оценки образцов с добавками и без составлена дифференцированная и суммарная оценка различных показателей качества в зависимости от используемых веществ (табл. 4).

Из представленных данных видно, что по сумме органолептических показателей в наиболее выгодном положении оказался образец с «Лестином-1».

В результате проделанной работы и на основании совокупной оценки качества готовой продукции было сделано заключение, что «Лестин-1» наиболее эффективно замедляет окислительную порчу, улучшает органолептические показатели и качество продукции в целом. Отмечено, что бензойнокислый натрий, не являясь антиокислителем, значительно улучшает качество продукции при хранении по органолептическим показателям. Поэтому в дальней-

Серьезной проблемой при производстве соленой продукции из лососевых является изменение цвета покровов и пожелтение тканей брюшной полости, связанные с окислением липидов, а также обесцвечивание тканей за счет разрушения пигмента астаксантина.

Как показали экспериментальные данные (рис. 13), наибольшее влияние на степень сохранности астаксантина оказывает «Лестин-1»; кроме того, установлено положительное влияние его на состояние кожных покровов и брюшной полости слабосоленой горбуши, а также на консистенцию мышечной ткани.

Таким образом, совокупность полученных результатов позволила заключить, что наиболее эффективной добавкой, оказывающей положительное влияние на окислительные процессы, прочность мяса, содержание каротиноидного пигмента, цвет брюшной полости и характеристику поверхности, является «Лестин-1».

Таблица 4

№ образца	Внешний вид		Запах		Вкус		Консистенция			Общая оценка	
	Общий	Цвет поверхности	Цвет ткани	Свойственный	Степень проявления окисленности жира	Свойственный	Степень проявления окисленности жира	Плотность	Сочность		Нежность
1	4,09	4,00	4,00	4,18	5,00	4,09	5,00	3,27	4,09	1,00	38,72
2	4,45	4,32	4,62	4,73	4,90	4,85	5,00	4,05	4,29	4,28	45,49
3	4,58	4,85	4,70	4,56	5,00	4,95	5,00	4,30	4,55	4,45	46,94
4	4,25	4,18	4,49	4,53	4,00	4,53	4,00	4,25	4,25	4,68	43,16
5	1,52	2,48	4,79	4,65	4,55	4,36	4,84	3,52	4,48	4,50	39,69
6	1,40	2,20	4,80	4,80	5,00	4,60	5,00	3,80	4,40	4,00	40,00
7	3,64	3,71	4,88	2,73	4,45	2,27	4,67	2,55	3,64	1,00	33,54
8	1,44	2,00	4,20	4,70	5,00	3,67	5,00	4,10	4,30	2,71	37,12

шем для производства слабосоленой рыбной продукции было рекомендовано использовать бензойноокислый натрий как с антиокислителем, так и без него.

Исследование влияния различных добавок на окисление липидов и качество слабосоленой продукции из нерки

Объектом исследования являлась слабосоленая нерка законченного посола, хранившаяся 8 мес при температуре минус 4 – минус 8 °С (содержание соли 9 %). С учетом предыдущих исследований в качестве антиокислительных добавок были отобраны кроме «Лестина-1»: смесь трех- и двухзамещенных солей цитрата натрия, смесь сульфита и метабисульфита натрия, виннокислый калий (с нейтральным рН) (табл. 5).

Таблица 5

Влияние добавок на количество продуктов окисления и содержание астаксантина и сульфитов в мышечной ткани слабосоленой нерки

Антиокислитель	Количество, % к массе	Карбонильные соединения, мг/100 г ± σ	Малоновый диальдегид, мг/100 г ± σ	Астаксантин, мкг/г ± σ	Имины, 10 ⁻¹¹ моль/г ± σ
Без добавок	-	90,94 ± 0,053	0,206 ± 0,0218	14,59 ± 0,034	12,49 ± 0,031
«Лестин-1»	0,01	54,79 ± 0,046	0,119 ± 0,0193	20,28 ± 0,023	4,48 ± 0,025
«Лестин-1»	0,02	56,67 ± 0,0398	0,123 ± 0,013	25,75 ± 0,036	7,46 ± 0,012
Виннокислый калий	0,1	60,40 ± 0,017	0,129 ± 0,021	24,74 ± 0,037	8,58 ± 0,024
Смесь трех- и двухзамещенной соли цитрата натрия	0,1	70,30 ± 0,082	0,162 ± 0,0159	16,16 ± 0,042	9,15 ± 0,041
Смесь сульфита и метабисульфита натрия	0,05	67,13 ± 0,055	0,144 ± 0,019	28,67 ± 0,027	6,97 ± 0,016

При исследовании образцов слабосоленой нерки были выявлены те же закономерности, что и при исследовании горбуши. Кроме этого, анализ изменений в содержании вторичных продуктов окисления и количества астаксантина позволил установить обратную зависимость между этими важными для оценки качества соленых лососевых факторами с коэффициентом регрессии $r = 0,94$ (рис. 14). Найденная зависимость показывает, что чем выше содержание малонового диальдегида, тем ниже количество астаксантина и соответственно тем слабее окраска (цвет) мышечной ткани.

Из результатов проведенных химических исследований, а также по оценке кожного покрова и брюшной полости сделано заключение, что наилучшие результаты были получены для образцов с добавками «Лестина-1» (образец № 2 и 3).

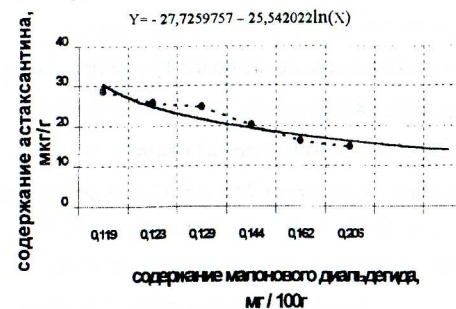


Рис. 14. Зависимость количества карбонильных соединений от концентрации малонового диальдегида

Установление сроков хранения слабосоленой горбуши с антиокислителем «Лестин-1» (производственная партия)

Для подтверждения воспроизводимости применения антиокислительного препарата в условиях производства была заготовлена опытно-производственная партия образцов слабосоленой горбуши законченного посола с добавлением 0,05 % «Лестина-1» к массе рыбы, а также без него (контроль). В качестве антисептика добавляли 0,1 % БКН, от 7 до 9 % хлорида натрия. Продукция хранилась при минус 6 – минус 7 °С в течение 9 мес.

Количество малонового диальдегида в процессе хранения партии образцов с «Лестином-1» было меньше по сравнению с контрольным, и это различие в процессе хранения увеличивалось. Количество астаксантина в образцах с «Лестином-1» изменялось незначительно и было выше, чем в контрольных, на протяжении всего срока хранения.

По изменению содержания малонового диальдегида и количества астаксантина, а также в результате органолептической оценки качества, уровня микробиологических и санитарно-гигиенических показателей установлено, что применение «Лестина-1» при производстве слабосоленой рыбной продукции из лососевых в рекомендуемых дозировках позволяет увеличить сроки хранения продукции в 1,5 раза по сравнению с принятыми ранее. Новизна технического решения подтверждена патентом.

ВЫВОДЫ

1. Научно обоснована и экспериментально подтверждена технология получения антиокислительного препарата «Лестин-1» и установлена целесообразность его применения при производстве и хранении соленой продукции из лососевых, что способствует замедлению окисления липидов, а также сохранению пигмента – астаксантина, обладающего антиокислительными свойствами.

2. Разработана и обоснована принципиальная технологическая схема получения антиокислительного препарата «Лестина-1» из леспедецы двухцветной, основными регулирующими параметрами которой являются:

- выбор сырья – побеги леспедецы (со сроком хранения не более 12 мес при температуре 20 ± 2 °С и относительной влажности воздуха 78 %);
- природа экстрагента и его концентрация – 95 %-ный этиловый спирт;
- продолжительность экстракции – 15 ч при температуре $78 \pm 0,5$ °С и 15 сут при температуре 20 ± 2 °С;
- гидромодуль 1: 3.

Установлено, что антиокислительная активность «Лестина-1», полученного с использованием указанных рациональных параметров при содержании сухих веществ 10–45 %, составляет более 1,0 единицы ионольного эквивалента (хранение при температуре 4–6 °С не более 14 мес; при температуре 20 ± 2 °С не более 3 мес).

3. Установлено с использованием ТСХ, ВЭЖХ, УФ-спектроскопии, что в состав препарата входят не менее шести соединений, обладающих антиокислительным действием с максимумами поглощения около 245, 270 и 330 нм, что указывает на их строение, близкое к флавоноидам. Это позволяет отнести полученный препарат к антиоксидантам, действующим по антирадикальному механизму.

4. Предложен и разработан метод количественной оценки влияния «Лестина-1» и других добавок на окислительные процессы при хранении соленой продукции из лососевых по содержанию малонового диальдегида в системе: мышечная ткань рыбы, хлорид натрия, инициаторы окисления.

Установлена корреляционная зависимость между содержанием карбонильных соединений и малонового диальдегида с коэффициентом регрессии $r = 0,96$, что позволяет при определении одного из показателей получить достоверную информацию об уровне другого.

5. Проведено сравнительное исследование «Лестина-1» и других антиоксидантов и установлено его преимущество, которое заключается в более высокой оценке показателей качества, наибольшей сохранности окрашивания, наименее активных деструктивных изменениях липидов и белков.

Научно обоснованы рациональные дозировки «Лестина-1» для замедления окислительных процессов при хранении соленой бочковой продукции из лососевых:

- горбуши – 0,05 % к массе рыбы,
- нерки – 0,02 % к массе рыбы.

Установлено, что применение «Лестина-1» при производстве слабосоленой рыбной продукции из лососевых в рекомендуемых дозировках за счет замедления окислительных

процессов в среднем на 40–60 % позволяет увеличить сроки хранения продукции в 1,5 раза по сравнению с принятыми при одинаковых температурных условиях.

Новизна технического решения подтверждена патентом РФ.

7. Выполненные исследования положены в основу технологии получения и применения антиокислительного препарата (антиокислительной пищевой добавки «Лестина-1») из растительного сырья при производстве рыбной продукции, а также разработки технической документации:

ТУ 9769-183-004722012-2000 «Побеги леспедецы двухцветной заготавливаемые»

ТИ № 36-172-2000 по изготовлению побегов леспедецы двухцветной заготавливаемых; и проектов технической документации:

«Экстракт из леспедецы двухцветной «Лестина-1». Пищевая антиокислительная добавка»: ТУ и ТИ;

«Лососи дальневосточные специального законченного посола»: ТУ и ТИ.

8. Выпущена опытно-промышленная партия слабосоленой бочковой горбуши с применением антиокислительной пищевой добавки «Лестина-1» на р/к «Островной» о. Шикотан в августе 1998 г., что доказывает воспроизводимость разработанной технологии в производственных условиях.

Основное содержание диссертации опубликовано в работах:

1. Чумак А.Д., Чибирик Л.М., Захарова Л.И., Сыскин Г.А. Метод определения ионола с помощью реактива Фолина // Технология гидробионтов. – Владивосток: ТИНРО, 1987. – С. 135–139.

2. Кротова Т.П., Павловский А.М., Чибирик Л.М., Чумак А.Д. Влияние способа посола и добавок на степень окисления соленых лососевых // Тез. докл. Всесоюз. науч.-техн. конф. «Совершенствование технологических процессов производства новых видов пищевых продуктов и добавок. Использование вторичного сырья пищевых ресурсов». – Киев, 1991. – Ч. 1. – С. 198–199.

3. Чумак А.Д., Кротова Т.П., Чибирик Л.М. Определение сульфитов в тканях рыб // Изв. ТИНРО. – 1992. – Т. 114. – С. 165–166.

4. Чумак А.Д., Миленина Н.И., Слуцкая Т.Н., Кротова Т.П., Чибирик Л.М. и др. Влияние различных добавок на окисление липидов и качество соленых лососевых // Изв. ТИНРО. – 1992. – Т. 114. – С. 167–174.

5. Кротова Т.П., Чибирик Л.М. Антиоксидантная активность ингибитора протеиназ из картофеля // Тез. докл. конф. молодых ученых ТИНРО. – Владивосток, 1993. – С. 67–68.

6. Андреев Н.Г., Бывальцева Т.М., Миленина Н.И., Соловьева Г.Ф., Тимчишина Г.Н., Чибирик Л.М., Чумак А.Д. Влияние различных факторов на качество малосоленой продукции из лососевых // Изв. ТИНРО. – 1995. – Т. 118. – С. 165–174.
7. Чумак А.Д., Павель К.Г., Чибирик Л.М. Степень окисления и качество соленых лососевых // “Рыбохозяйственные исследования океана”: Мат-лы юбилейной науч. конф. (8–12 апреля 1996). – Владивосток: Дальрыбвтуз, 1996. – С. 66–67.
8. Чумак А.Д., Чибирик Л.М., Павель К.Г. Исследование антиокислительного действия ингибитора протеолиза из клубней картофеля // Изв. ТИНРО. – 1997. – Т. 120. – С. 147–151.
9. Патент РФ № 2120761. Способ посола лососевых рыб / Чумак А.Д., Максимов О.Б., Чибирик Л.М. и др. – Приоритет от 01.08.97; Опубл. 27.10.98. Бюл. № 30.
10. Чумак А.Д., Чибирик Л.М., Павель К.Г. Антиокислительный препарат из леспедыцы двухцветной (*Lespedeza bicolor Turcz*) // Изв. ТИНРО. – 1999. – Т. 125. – С. 260–264.
11. Чибирик Л.М. Определение эффективности антиоксидантов при посоле рыбы // Изв. ТИНРО. – 1999. – Т. 125. – С. 147–151.
12. Чибирик Л.М. Перспективы применения антиокислительного препарата из растительного сырья при производстве пищевой продукции // Тез. докл. Междунар. симпоз. “Питание XXI века: медико-биологические аспекты, пути оптимизации”. – Владивосток, 1999. – С. 102–103.
13. Чибирик Л.М., Чумак А.Д., Павель К.Г., Андреев Н.Г. Производство слабосоленой продукции из лососевых с применением антиокислительного препарата // Тез. докл. 2-го Междунар. симпоз. “Ресурсосберегающие технологии в аквакультуре”. – 1999. – С. 65.
14. Чумак А.Д., Чибирик Л.М., Павель К.Г. Определение степени окисления липидов флюоресцентным методом // Изв. ТИНРО. – 1999. – Т. 125. – С. 111–114.
15. Чумак А.Д., Чибирик Л.М., Павель К.Г., Андреев Н.Г. Повышение качества слабосоленой рыбной продукции с помощью добавок антиокислительного действия // Изв. ТИНРО. – 1999. – Т. 125. – С. 315–320.

Тихоокеанский научно-исследовательский рыбохозяйственный центр

Владивосток, тупик Шевченко, 4