

6. Купина Н.М., Зюзьгина А.А. Влияние ферментативной обработки на физико-химические свойства белков и качество продукции из осьминога // Низкотемпературные и пищевые технологии в XXI веке: Тез. докл. Междунар. науч.-техн. конф. – Санкт-Петербург, 2001. – С. 354.

7. Зюзьгина А.А., Купина Н.М. Характеристика азотсодержащих веществ ткани осьминогов песчаного *Paractopus conispadiceus* и гигантского *Paractopus dofleini* // Рыбохозяйственная наука на пути в XXI век: Тез. докл. Всерос. конф. молод. учён. – Владивосток: ТИНРО, 2001. – С. 123–125.

8. Зюзьгина А.А., Купина Н.М. Влияние ферментативной обработки на физико-химические свойства и микроструктуру ткани осьминога // Рыбохозяйственная наука на пути в XXI век: Тез. докл. Всерос. конф. молод. учён. – Владивосток: ТИНРО, 2001. – С. 125–126.

9. Купина Н.М., Зюзьгина А.А. Использование препарата «Крусэнзим» в технологии изготовления продуктов из осьминога // Повышение качества рыбной продукции – стратегия развития рыбообработки в XXI веке: Тез. докл. 3-й Междунар. науч.-практ. конф. – Светлогорск, 2001. – С. 110.

10. Купина Н.М., Зюзьгина А.А. Азотсодержащие вещества в мышечной ткани и коже песчаного и гигантского осьминогов // Хранение и переработка сельхозсырья. – 2002. – № 7. – С. 27–29.

11. Зюзьгина А.А., Купина Н.М. Технохимическая характеристика двустворчатого моллюска анадара *Anadara broughtoni* // XXI век – перспективы развития рыбохозяйственной науки: Матер. Всерос. интернет-конф. молод. учён. – Владивосток: ТИНРО, 2002. – С. 147–150.

12. Зюзьгина А.А., Купина Н.М. Использование препарата «Крусэнзим» в технологии солёной продукции из анадары // XXI век – перспективы развития рыбохозяйственной науки: Матер. Всерос. интернет-конф. молод. учён. – Владивосток: ТИНРО, 2002. – С. 151–155.

13. Зюзьгина А.А. Амилолитическая и протеолитическая активности печени некоторых гидробионтов // XXI век – перспективы развития рыбохозяйственной науки: Матер. Всерос. интернет-конф. молод. учён. – Владивосток: ТИНРО, 2002. – С. 142–146.

14. Заявка на изобретение № 2002110612/13 МПК 7 А 23 L 1/33 (Россия) Способ комплексной переработки двустворчатых зарывающихся моллюсков (клемов) (Варианты) / Купина Н.М., Зюзьгина А.А., Поваляева Н.Т., Киселёв В.В., Герасимова Н.А. (ФГУП Тихоокеанский научно-исследовательский рыбохозяйственный центр). – № 011056, Заявл. 19.04.02. Положительное решение от 20.01.04.

15. Купина Н.М., Зюзьгина А.А., Долматов И.Ю. Особенности химического состава и гистологического строения мышечной ткани двустворчатого моллюска *Anadara broughtoni* // Хранение и переработка сельхозсырья. – 2003. – № 8. – С. 90–93.

Подписано в печать 31.05.2004 г. Формат 60x90/16.

Уч.-изд.л. 1. Тираж 100. Заказ № 7.

Типография ФГУП «ТИНРО-центр»

УДК 664.951,5 : 594,1 : 594,56

На правах рукописи

h-ke

ЗЮЗЬГИНА Анжелика Анатольевна

БИОТЕХНОЛОГИЯ ПИЩЕВОЙ ПРОДУКЦИИ ИЗ АНАДАРЫ И ОСЬМИНОГА

Специальность 05.18.07 – биотехнология пищевых продуктов

(биотехнология гидробионтов)

Зюзьгина

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание учёной степени кандидата
технических наук

Владивосток – 2004

Работа выполнена в лаборатории биотехнологии пищевых и технических продуктов Федерального государственного унитарного предприятия «Тихоокеанский научно-исследовательский рыбохозяйственный центр» (ФГУП «ТИНРО-центр»).

Научный руководитель: кандидат технических наук, старший научный сотрудник Купина Наталья Михайловна

Официальные оппоненты: доктор биологических наук, профессор Шульгина Лидия Васильевна
кандидат химических наук, доцент Соколова Лариса Ивановна

Ведущая организация: Дальневосточный государственный технический рыбохозяйственный университет (Дальрыбвтуз)

Защита состоится 8 июля 2004 г. в 10
Д 307.012.01 при ФГУП «ТИНРО-центр»
переулок Шевченко, 4.
Факс: (4232) 300-751.

С диссертацией можно ознакомиться

Автореферат разослан 4 июня 2004

Учёный секретарь диссертационного совета, кандидат биологических наук

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. Наблюдающаяся в последние годы активизация прибрежного лова привлекает внимание к новым и ранее малоиспользуемым объектам, в частности двустворчатым (анадара Броутона *Anadara broughtoni*) и головоногим (осьминоги *Paractopus sp.*) моллюскам. Наличие в мышечной ткани этих моллюсков полноценных белков, витаминов, углеводов, макро- и микроэлементов, биологически активных веществ (Оводова и др., 1990; Murakami et al., 1990; Аюшин и др., 1999) определяет перспективность их использования для получения продуктов с высокой пищевой и биологической ценностью. Однако если данные о некоторых свойствах тканей гигантского осьминога *Paractopus dofleini* и песчаного осьминога *Paractopus conispadiceus* известны (Диденко, 1973; Лебедев, 1974; Kariya et al., 1986), то сведений о двустворчатом моллюске *A. broughtoni*, промысел которого ведётся в Дальневосточном регионе с 1996 г., в доступной литературе недостаточно.

До настоящего времени использование этих моллюсков для изготовления пищевой продукции остаётся ограниченным, так как известные технологии, основанные на механическом воздействии и длительной термообработке сырья, сопровождаются значительной потерей их массы и ценных экстрактивных веществ и в то же время не позволяют получить продукцию высокого качества (Дубровская, 1992). Кроме того, эти технологии характеризуются высокими временными и энергозатратами. Проблематично также удаление кожи у осьминога, которое в настоящее время осуществляется механическим и гидротермическим способами (Пат. № 2115345).

Для повышения эффективности технологии изготовления пищевой продукции из моллюсков рекомендовано использование ферментных препаратов (Пат. № 2101985; Пат. № 2726618). Известные технологии, предусматривающие использование протеолиза, включают длительную последующую термообработку ферментированных тканей моллюсков, что приводит к снижению выхода и пищевой ценности готовой продукции. При этом срок хранения продукции, в частности пресервов, не превышает 2-3 мес (Туватова, 2002).

Поэтому актуальной является разработка таких биотехнологических приёмов, которые способствуют повышению эффективности технологии изготовления пищевой продукции из моллюсков и одновременно обеспечивают высокое качество готовой продукции.

Цель настоящей работы: научное обоснование и разработка технологий производства пищевой продукции из анадары и осьминога с применением ферментного препарата Крусэнзим, выделенного из печени камчатского краба.

Задачи исследования:

- установить возможность использования анадары в качестве сырья для производства пищевой продукции, исследовав гигиеническую безопасность моллюска и теххимические показатели его мышечной ткани;

- в процессе гидротермической и ферментативной обработки мышечной ткани анадары и осьминога исследовать изменение физико-химических свойств и структуры их ткани;

- определить оптимальные параметры процесса обесшкуривания осьминога (температура раствора, концентрация препарата Крусэнзим, время обработки) при изготовлении мороженой продукции;

- определить оптимальные параметры гидротермической и ферментативной обработки мышечной ткани анадары и осьминога (температура раствора, концентрация препарата Крусэнзим, время обработки) при изготовлении пресервов;

- изучить влияние биотехнологической обработки и условий хранения на органолептические и гигиенические показатели и пищевую ценность продукции из анадары и осьминога;

- разработать и утвердить нормативную документацию на изготовление мороженой продукции и пресервов из анадары и осьминога.

Научная новизна работы. Впервые исследован новый объект промысла -- анадара Броутона; определены гигиеническая безопасность, технологические свойства моллюска, пищевая ценность и особенности структуры его мышечной ткани.

Научно обоснована целесообразность применения ферментного препарата протеолитического действия Крусэнзим в технологии изготовления безопасной продукции длительного срока хранения из анадары и осьминога.

Исследована зависимость изменения химического состава и структуры мышечной ткани анадары и осьминога от глубины гидролиза белков под действием препарата Крусэнзим и установлены оптимальные параметры протеолитической обработки.

Научно обоснованы условия предварительной гидротермической обработки мышечной ткани анадары, обеспечивающие эффективность последующего протеолиза.

Практическая значимость работы. Разработана технология, определены условия и сроки хранения анадары-сырца и анадары мороженой, а так же технология обесшкуривания осьминога и мороженой продукции из него.

Разработана технология изготовления пресервов анадары и осьминога.

Разработаны и утверждены нормативные документы:

ТУ 9253-187-00472012-2000 «Анадара-сырец»;

ТУ 9265-189-00472012-2000 «Филе и мантия анадары мороженые»;

ТУ 9265-219-00472012-02 «Анадара неразделанная мороженая»;

ТУ 9265-220-00472012-02 «Анадара разделанная на створке мороженая»;

ТУ 9265-195-00472012-2000 «Осьминог обесшкуренный мороженный»;

ТУ 9274-191-00472012-02 «Пресервы из анадары в заливках и соусах»;

ТУ 9274-138-00472012-2000 «Пресервы из осьминога в заливках и соусах».

Реализация результатов исследования. Продукция получила одобрение на дегустационных совещаниях в Институте питания РАМН, Госкомрыболовстве России, ФГУП «ТИНРО-центр».

Выпущены опытно-промышленные и промышленные партии продукции на ООО «Сквид», ООО «Акватехнологии» и ООО Р/к «Дальневосточник» в количестве: «Осьминог обесшкуренный мороженный» – 0,3 т; «Пресервы из осьминога в заливках и соусах» – 0,4 туб; «Пресервы из анадары в заливках и соусах» – 0,4 туб.

усах) – 5,6 туб; «Филе и мантия анадары мороженые» – 11,1 т; «Анадара разделанная на створке мороженая» – 0,8 т.

Апробация работы. Материалы диссертации представлены на конференции молодых учёных «Биомониторинг и рациональное использование гидробионтов» (Владивосток, 1997), Международной научно-технической конференции «Низкотемпературные и пищевые технологии в XXI веке» (Санкт-Петербург, 2001), Всероссийской конференции молодых учёных «Рыбохозяйственная наука на пути в XXI век» (Владивосток, 2001), 3-й Международной научно-практической конференции «Повышение качества рыбной продукции – стратегия развития рыбообработки в XXI веке» (Светлогорск, 2001), Всероссийской интернет-конференции молодых учёных «XXI век – перспективы развития рыбохозяйственной науки» (Владивосток, 2002), Всероссийской конференции молодых учёных «Комплексные исследования и переработка морских и пресноводных гидробионтов» (Владивосток, 2003), Международной конференции «Рациональное природопользование и управление морскими биоресурсами: экосистемный подход» (Владивосток, 2003).

Публикации. По результатам диссертационной работы опубликовано 15 печатных работ, в том числе один патент РФ на изобретение.

Структура и объём диссертации. Диссертация состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов, экспериментальной части, выводов, списка цитируемой литературы, включающего 283 наименования. Работа изложена на 243 стр., содержит 37 таблиц, 23 рисунка и 29 приложений.

Благодарности. Автор благодарен за ценные советы и научное сотрудничество при выполнении работы: Н.М. Купиной, Т.Н. Слуцкой, Л.В. Шульгиной, Л.Т. Ковековдой и другим сотрудникам ТИНРО-центра.

Основные положения, выносимые на защиту. Технохимическая характеристика нового вида пищевого сырья – анадары Броутона, особенности строения её тканей, а также условия хранения.

Обоснование режимов протеолитического воздействия препарата Крусэнзим на ткани анадары и осьминога.

Регулирование консистенции мышечной ткани исследуемых объектов путём сочетания и определённой последовательности термообработки и протеолитического воздействия.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Введение. Обоснована актуальность темы, определена цель исследования и намечены пути её достижения, сформулирована научная новизна, основные положения, выносимые на защиту, и показана практическая значимость работы.

Глава 1. Обзор литературы. Проведен анализ отечественной и иностранной научной литературы и изобретений по использованию биотехнологических приёмов при переработке моллюсков. Обобщены данные о технохимической характеристике тканей головоногих и двустворчатых моллюсков. Проанализированы данные о структурных изменениях мышечной ткани головоногих моллюсков, а так же – коллагена под действием термической и ферментативной обработки. Выдвинуто предположение о том, что использование в технологии пресервов из анадары и осьминога полиферментного препарата Крусэнзим позволит размягчить мышечную ткань моллюсков и удалить кожный покров у осьминога, а уменьшение продолжительности и температуры обработки сырья обеспечит сохранение пищевой ценности моллюсков.

Глава 2. Объекты, материалы и методы исследований

Схема проведения исследований представлена на рис. 1.

Объектами исследования служили: гигантский осьминог *Paractopus dofleini*, песчаный осьминог *Paractopus conispadiceus* и анадара Броутона *Anadara broughtoni*.

При выполнении исследований осьминогов разделявали с удалением головы, внутренностей из мантийной полости и отделением шупалец от мантии. У анадары раковину вскрывали ножом, извлекали органы, удаляли внутренности и отделяли мантию, аддуктор и ногу. Далее в работе использовали шупальца и мантию осьминогов *P. dofleini* и *P. conispadiceus* и ногу, мантию и аддуктор анадары *A. broughtoni*.

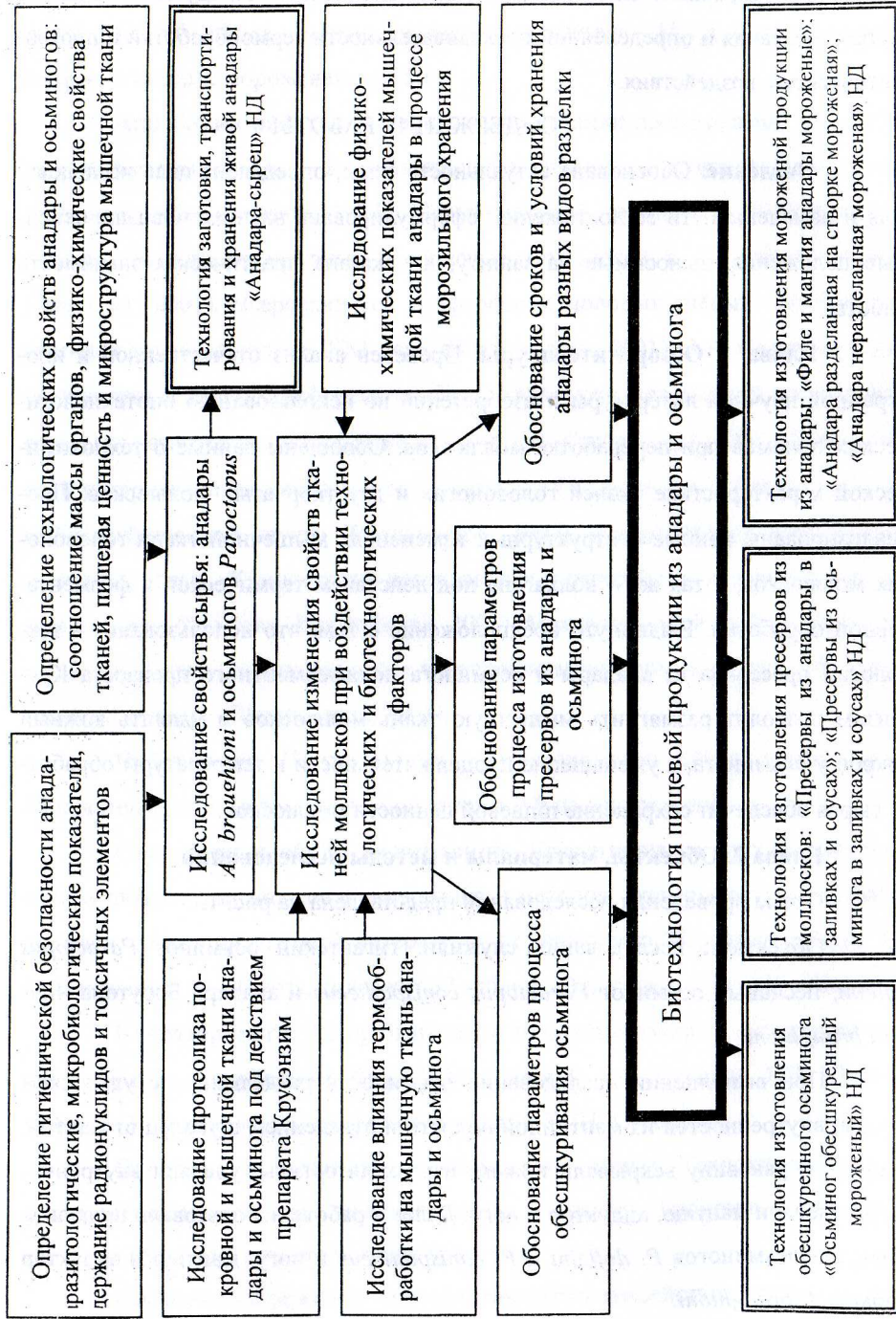


Рис. 1. Общая схема проведения исследований в технологии анадр и осьминога

Для удаления кожного покрова с осьминога и размягчения мышечной ткани моллюсков использовали ферментный препарат, выделенный из печени камчатского краба *Paralithodes camtschatica*, – Крусэнзим, далее по тексту – ФП.

Химический состав тканей моллюсков (массовую долю воды, азотистых веществ, рН ткани) определяли по общепринятым методикам (ГОСТ 7636-85). Содержание N ам устанавливали по методике Окуяма, Сатаке (Okuyama, Satake, 1960). Влагоудерживающую способность (ВУС) белков определяли по методу Грау и Хамма в модификации О.М. Мельниковой (1977). Содержание азота летучих оснований определяли титриметрическим методом (ГОСТ 7636-85). Содержание углеводов в ткани моллюсков устанавливали в растворе с антроном после щелочного гидролиза ткани (Практикум по биохимии, 1989). Состав протеогликанов определяли на хроматографе Pye-Unican-104 по методике Р.Г. Овдова с соавторами (1990). Фракционирование белков (Matsumoto, 1958) и коллагена (Sato et al., 1986a) проводили по общепринятым методикам. Количество коллагена в тканях и фракциях оценивали по содержанию оксипролина (Крылова, Лясковская, 1965). Аминокислотный состав белков определяли на аминокислотном анализаторе «Hitachi-835» после кислотного гидролиза ткани (Практикум по биохимии, 1989). Оценку относительной биологической ценности (ОБЦ) моллюсков устанавливали с помощью реснитчатой инфузории *Tetrahymena pyriformis* (Долгов, 1984). Гистологические исследования проводили по методике Г.И. Роскина, Л.Б. Левинсона (1957) и Х. Лупа (1980). Состав макро- и микроэлементов исследовали методом атомно-адсорбционной спектрофотометрии на приборе фирмы «Nippon Yorel Ash», модель AA-855 (ГОСТ 30178-96). Микробиологические показатели исследовали стандартными методами. Качество готовой продукции оценивали по пятибалльной шкале (Сафронова, 1998). Проведение регрессионного анализа одно- и двухфакторных экспериментов и расчёт коэффициентов регрессии осуществляли с помощью общепринятых формул (Максимов, 1980). Построение установленных зависимостей и определение оптимальных значений параметров для каждого этапа технологического процесса осуществляли с использованием компьютерной программы «Mathcad». Полу-

ченные экспериментальные данные обрабатывали статистически с помощью пакета программ «Statistics-2000» и «Microsoft Excel-2000».

Глава 3. Экспериментальная часть

Характеристика осьминогов *Paractopus conispadiceus* и *Paractopus dofleini* и двустворчатого моллюска *Anadara broughtoni*, как сырья для производства пищевых продуктов. Результаты определения химического состава и показателей безопасности отдельных органов моллюсков показали, что съедобными частями у *A. broughtoni* являются нога, мантия и аддуктор. При разделке моллюска выход ноги относительно его массы составляет 6,9–14 %, мантии и аддуктора – 8–11 %. Выход съедобных частей – щупалец и мантии *P. dofleini* составляет соответственно 63,8 и 12,3 % и *P. conispadiceus* – 64,5 и 11,8 %. Использование мантии и аддуктора позволит увеличить выход готовой продукции из *A. broughtoni* на 50 % и мантии *Paractopus sp.* – на 20 %.

При исследовании аминокислотного состава белков мышечной ткани *A. broughtoni* и *Paractopus sp.* установлено, что скор незаменимых аминокислот, определённый по шкале ФАО/ВОЗ, за исключением лизина у *P. dofleini*, выше, чем у идеального белка, что свидетельствует о высокой биологической ценности тканей моллюсков. Отличительной особенностью химического состава исследованных моллюсков является наличие в их тканях биологически активных веществ: таурина, глицина, гистидина, карнозина, высоконенасыщенных жирных кислот, а также высокое содержание углеводов.

При исследовании фракционного состава белков установлено, что в мышечной ткани *Paractopus sp.* преобладают миофибриллярные белки, а *A. broughtoni* – соединительнотканые. Доля последних в мышечной ткани *A. broughtoni* выше в 2–4 раза, чем в ткани *Paractopus sp.* и в 15–20 раз, чем в ткани рыб. Причём у *A. broughtoni* более 90 % коллагена – нерастворимая фракция, в то время как в тканях *P. dofleini* его доля меньше в 3 раза.

Гистологическое исследование мышечной ткани моллюсков показало, что нога *A. broughtoni* сформирована только продольными плотно расположенными мышечными пучками (рис. 2, а), в то время как в мантии *A. broughtoni*

мышечные пучки не формируют слоёв, располагаясь без особого порядка в толстом слое соединительной ткани (рис. 2, б). Щупальца *Paractopus sp.* сформированы продольными и циркулярными мышечными пучками (рис. 2, в), в то время как в мантии *Paractopus sp.* большую часть мышечного слоя занимают продольные мышечные пучки (рис. 2, г). В щупальцах и мантии *Paractopus sp.*, так же как и в ткани ноги *A. broughtoni*, мышечные пучки очень плотно прилегают друг к другу.

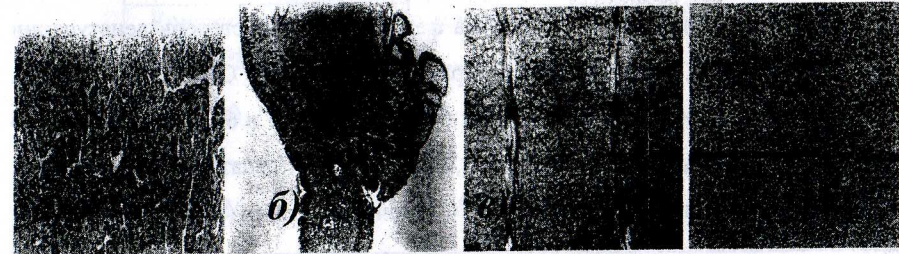


Рис. 2. Структура мышечной ткани моллюсков. Поперечный срез. Гематоксилин Караччи, эозин и краситель Маллори. *A. broughtoni*: а – нога. Увелич.: Окуляр*10. Объектив*10; б – мантия. Увел.: Окуляр*7. Объектив*4. *Paractopus sp.*: в – щупальца. Увел.: Окуляр*10. Объектив*4; г – мантия. Увел.: Окуляр*10. Объектив*10

Гигиеническая экспертиза показала, что *A. broughtoni* безопасна для здоровья человека, продолжительность транспортирования и хранения сырья при температуре от 1 до 3 °С с момента вылова – не более 10 сут. Определено, что срок морозильного хранения моллюска зависит от способа разделки и обработки. Установлено, что при температуре минус 18 °С филе и мантия анадары и анадара разделанная на створке, сохраняют качество в течение 10 мес, а анадара неразделанная – 7 мес.

На основании результатов физико-химического и гистологического исследований установлено, что факторами, обуславливающими жёсткую консистенцию мышечной ткани моллюсков, являются высокое содержание соединительнотканых белков и специфическая структура тканей. Было выдвинуто предположение о возможности её размягчения с помощью ФП. Выявленные различия в морфологическом строении органов, их химическом составе и струк-

туре мышечной ткани исследуемых моллюсков позволяют ожидать, что устойчивость белков мышечной ткани *A. broughtoni* к действию ФП будет выше, чем ткани *Parostopus sp.*

Разработка биотехнологии обесшкуривания осьминога и изготовления пресервов из щупалец и мантии осьминога. Поскольку биотехнология изготовления обесшкуреного осьминога предполагает обработку сырья в водном растворе ФП, проявляющем активность при температуре 40–60 °С, исследовано влияние температурного режима ферментализации на степень денатурации мышечных белков. Установлено, что при температуре 40 °С в течение 15 мин денатурирует 18,6 % миофибрилярных белков, а при 50 и 60 °С их количество увеличивается соответственно в 2,3 и 3,7 раза. Полная денатурация мышечных белков достигается при температуре 80 °С в течение 15 мин (рис. 3).

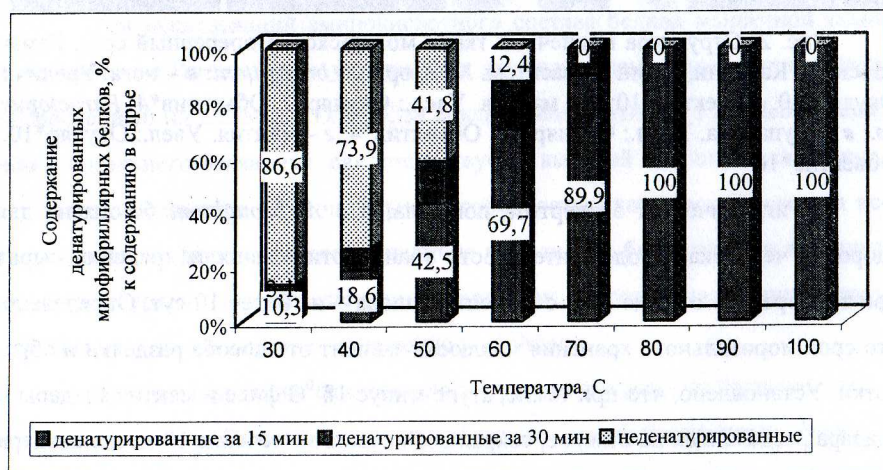


Рис. 3. Содержание денатурированных миофибрилярных белков в мышечной ткани осьминога, обработанного в воде при разной температуре

На основании полученных данных было сделано заключение, что для сохранения нативных свойств сырья при обработке осьминога температура раствора с ФП не должна превышать 40±2 °С.

На основании экспериментальных данных установлено, что продолжительность процесса растворения кожи осьминога зависит от концентрации ФП,

температуры раствора, вида органа и влияет на органолептические свойства мышечной ткани. Определены предварительные условия ферментации осьминога: температура раствора – 40±2 °С, концентрация ФП – 90 Пе на 100 г щупалец и 30 Пе на 100 г мантии (табл. 1).

Таблица 1
Влияние температуры и концентрации ФП на скорость растворения кожи и органолептическую оценку ткани осьминога, среднее ±σ

Образец	Условия обработки		Время растворения кожи, мин	Органолептическая оценка, балл
	Концентрация ФП, Пе на 100 г	Температура, °С		
Щупалец	90	30	37,5±2,5	2,8±0,2
		40	17,5±2,5	4,4±0,3
		50	7,0±1,0	1,4±0,3
	150	30	17,5±2,5	2,8±0,2
		40	5,0±1,0	2,2±0,2
		50	3,0±1,0	1,2±0,2
Мантия	30	30	27,5±2,5	2,4±0,3
		40	12,5±2,5	4,4±0,3
		50	6,5±1,0	2,2±0,2
	60	30	18,5±3,0	2,8±0,2
		40	7,5±2,5	2,2±0,2
		50	4,0±1,0	1,2±0,2

Показано, что увеличение концентрации ФП в растворе от 90 до 150 Пе на 100 г щупалец и от 30 до 60 Пе на 100 г мантии осьминога и (или) повышение температуры раствора до 50 °С неблагоприятно влияет на органолептические показатели готовой продукции. Более низкая устойчивость кожи мантии осьминога к ферментализации по сравнению с таковой щупалец обусловлена различием их химического состава и строения тканей.

При исследовании химического состава мышечной ткани осьминога в выбранных условиях установлено, что в начальный период ферментативной обработки в течение 15 мин для щупалец и 10 мин для мантии гидролизу подвергаются только белки кожного покрова. Увеличение продолжительности ферментации выше указанных временных пределов приводит к диффузии ФП в мышечное волокно и гидролизу мышечных белков, в результате чего увеличивается количество продуктов протеолиза в ткани осьминога (рис. 4).

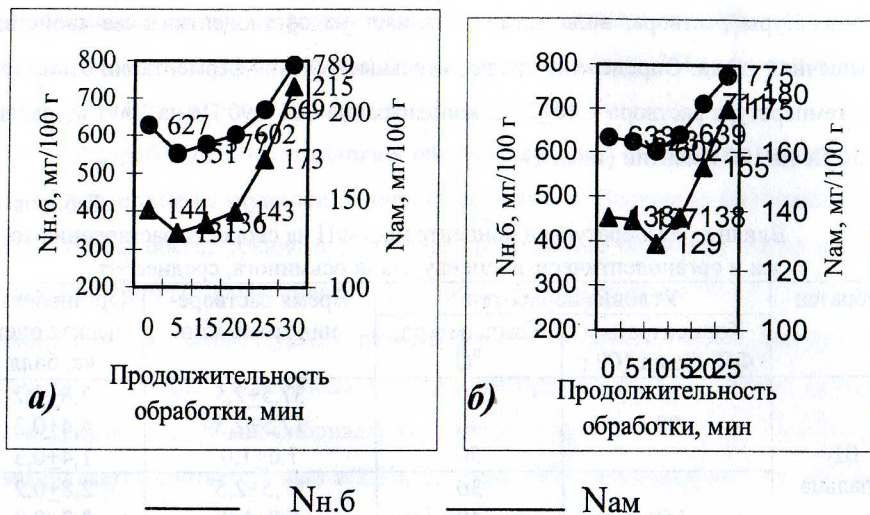


Рис. 4. Содержания небелкового (Нн.б) и аминного азота (Нам) в мышечной ткани щупалец (а) и мантии (б) ферментированного осьминога в зависимости от продолжительности ферментативной обработки. Концентрация ФП: 90 Пе на 100 г щупалец, 30 Пе на 100 г мантии

Сравнительный анализ физико-химических показателей щупалец осьминога, обесшкуренных различными способами, показал, что ферментативный способ позволяет сохранить нативные свойства тканей, увеличить выход продукта, по сравнению с термическим способом, более чем в 1,5 раза, сократить потери питательных веществ и получить продукт с высокой пищевой и биологической (ОБЦ) ценностью (табл. 2).

Таблица 2
Характеристика мышечной ткани щупалец осьминога в зависимости от способа обесшкуривания, среднее $\pm \sigma$

Показатель	Способ обесшкуривания		
	Механический	Термический	Ферментативный
Температура обработки, °С	20 \pm 2,0	100 \pm 2,0	40 \pm 2,0
Время обработки, мин	45 \pm 5,0	60 \pm 4,0	15,0 \pm 1,5
Вода, %	79,1 \pm 0,2	62,3 \pm 0,4	78,2 \pm 0,6
Нн.б, % от N общ.	24,8 \pm 0,07	5,2 \pm 0,01	21,6 \pm 0,05
ВУС, %	50,9 \pm 0,2	30,2 \pm 0,2	48,8 \pm 0,4
ОБЦ, %	82,3 \pm 1,6	74,7 \pm 1,4	84,4 \pm 1,3
Выход мышечной ткани, %	48,0 \pm 3,4	30,2 \pm 1,4	47,1 \pm 2,6

Проведение двухфакторного регрессионного анализа показало, что процесс обесшкуривания осьминога может быть описан уравнением регрессии второго порядка для щупалец (1) и мантии (2):

$$y = 81,25 + 48,33x_1 + 7,5x_2 - 28,75x_1^2 - 1,25x_2^2 - 1,25x_1x_2, \quad (1)$$

$$y = 76,25 + 48,33x_1 + 9,167x_2 - 23,75x_1^2 - 1,25x_2^2 - 1,25x_1x_2, \quad (2)$$

где y – степень мацерации, %; x_1 – концентрация ФП, Пе на 100 г сырья; x_2 – время обработки, мин.

Исследование полученных зависимостей, описываемых уравнениями (1) и (2), с высокой степенью вероятности (5%-ный уровень значимости F-критерия) позволило определить оптимальные параметры процесса обесшкуривания осьминога, обеспечивающие минимальное повреждение структуры мышечной ткани: для щупалец – концентрация ФП – 90 Пе на 100 г сырья, время обработки – 15 мин; для мантии – концентрация ФП – 30 Пе на 100 г сырья, время обработки – 10 мин при температуре 40 \pm 2 °С.

Исследование показало, что при оптимальных условиях ферментативной обработки в мышечной ткани осьминога не обнаружена остаточная активность ФП. Установлено, что срок хранения обесшкуренного осьминога при температуре минус 18 °С составляет 10 мес.

При разработке технологии пресервов из обесшкуренного осьминога установлено, что увеличение продолжительности ферментативной обработки осьминога в условиях обесшкуривания до 20 мин для щупалец и до 15 мин для мантии позволяет улучшить консистенцию готовой продукции за счёт ферментативного гидролиза белков мышечной ткани. Однако срок хранения таких пресервов не превышал 2–3 мес из-за чрезмерного размягчения мышечной ткани. В связи с этим исследована возможность инактивации ФП и увеличения срока хранения продукции за счёт термообработки ферментированного сырья, которую проводили при температуре 50 и 60 °С в течение 10 и 25 мин.

Установлено, что лучшую консистенцию имели образцы, обработанные при температуре 50 °С в течение 25 мин. В результате такой обработки ткань осьминога теряет около 2 % воды и не более 15 % экстрактивных азотистых

веществ. Обработка осьминога при температуре $60\text{ }^{\circ}\text{C}$ даже при сокращении времени обработки приводит к чрезмерному уплотнению мышечных волокон, большому обезвоживанию и потере более 20 % небелковых азотистых веществ, что отрицательно сказывается на органолептической характеристике образцов.

Применение термообработки в биотехнологии пресервов из осьминога позволило не только повысить их качество, но и увеличить срок хранения пресервов при температуре от минус 4 до минус $6\text{ }^{\circ}\text{C}$ до 5 мес за счёт инактивации ФП в ткани ферментированного моллюска.

Проведение двухфакторного регрессионного анализа показало, что процесс протеолитического воздействия ФП на мышечную ткань осьминога может быть описан уравнением регрессии второго порядка для щупалец (3) и мантии (4):

$$y = 3,5 + 0,1x_1 + 0,233x_2 - 2,2x_1^2 - 0,3x_1x_2, \quad (3)$$

$$y = 3,5 - 0,05x_1 + 0,33x_2 - 2,35x_1^2 - 0,15x_1x_2, \quad (4)$$

где y – органолептическая оценка, балл; x_1 – концентрация ФП, Пе на 100 г сырья; x_2 – время обработки, мин.

Процесс термообработки ферментированного сырья описывается уравнением регрессии (5):

$$y = 4,9 - 0,75x_1 - 0,067x_2 - 1,25x_1^2 - 0,15x_1x_2, \quad (5)$$

где y – органолептическая оценка, балл; x_1 – температура обработки, $^{\circ}\text{C}$; x_2 – время обработки, мин.

Исследование полученных зависимостей, описываемых уравнениями (3), (4) и (5), с высокой степенью вероятности (5 %-ный уровень значимости F-критерия) позволило определить оптимальные параметры протеолитического воздействия и термической обработки щупалец и мантии осьминога при изготовлении пресервов, обеспечивающие необходимую глубину протеолиза мышечной ткани и приемлемую консистенцию готовой продукции: для щупалец – концентрация ФП – 90 Пе на 100 г сырья, время обработки – 20 мин; для мантии – концентрация ФП – 30 Пе на 100 г сырья, время обработки – 15 мин при температуре $40 \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$; термообработка ферментированного сырья: температура об-

работки – $50 \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$, время обработки – 25 мин.

На основании сравнительного исследования качества продукции и её органолептической оценки разработан ассортимент пресервов из осьминога в заливках и соусах, включающий 5 наименований, и утверждена соответствующая нормативно-техническая документация.

Разработка биотехнологии пресервов из мышечной ткани анадары.

Сравнительная оценка ферментированных образцов анадары показала, что ФП в количестве 15, 30 и 45 Пе на 100 г сырья способствует интенсификации протеолиза, однако мышечная ткань не приобретает признаков созревания и размягчение наблюдается только на поверхности ткани. На основании этих данных сделано предположение о том, что для обеспечения проникновения ФП в глубину мышечной ткани и равномерного её размягчения необходимо увеличить её проницаемость за счёт термической денатурации белков.

Исследование растворимости миофибриллярных белков показало, что при температуре $50\text{ }^{\circ}\text{C}$ в течение 15 мин денатурирует 30 % миофибриллярных белков, а при $70\text{ }^{\circ}\text{C}$ их количество увеличивается в 2,5 раза. Полная денатурация мышечных белков достигается при температуре $90\text{ }^{\circ}\text{C}$ в течение 15 мин (рис. 5). Это позволяет сделать вывод, что термостабильность миофибриллярных белков анадары выше, чем белков осьминога (см. рис. 3).

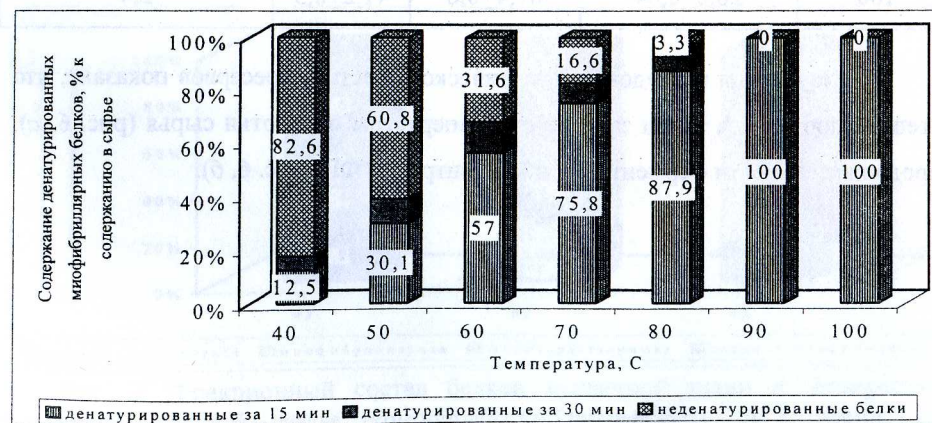


Рис. 5. Содержание денатурированных миофибриллярных белков в мышечной ткани *A. broughtoni*, обработанной в воде при разной температуре

Для изменения структуры мышечной ткани анадара обрабатывали в воде при температуре 50, 70 и 100 °С в течение 20 мин. Результаты исследования показали, что термообработка сырья сопровождается обезвоживанием ткани и изменением её структуры. Эти изменения минимальны при температуре 50 °С и увеличиваются с повышением температуры обработки.

Установлено, что в процессе обработки анадара при температуре 50 °С потери воды не превышают 1 %, ткань при этом слегка уплотняется. При увеличении температуры обработки до 70 и 100 °С потери воды составляют соответственно 7,0 и 11,7 %, а мышечная ткань становится более плотной и жёсткой. При этом в бульон переходит почти в два раза больше экстрактивных азотистых веществ и углеводов, чем при температуре 50 °С (табл. 3).

Таблица 3
Физико-химические свойства мышечной ткани *A. broughtoni*, обработанной при разной температуре

Температура обработки, °С	Содержание, %, среднее ±σ			Водно-белковый коэффициент = вода/белковые в-ва
	Белковые в-ва, Нобщ.*6,25	Вода	ВУС	
-	16,9±0,06	79,1±0,7	54,8±0,4	4,7
50	17,2±0,07	78,8±0,5	52,5±0,3	4,6
70	23,9±0,05	72,1±0,8	44,1±0,2	3,0
100	28,6±0,04	67,4±0,6	41,2±0,3	2,4

Результаты исследования химического состава пресервов показали, что степень протеолиза ткани зависит от температуры обработки сырья (рис. 6, а), продолжительности ферментации и концентрации ФП (рис. 6, б).

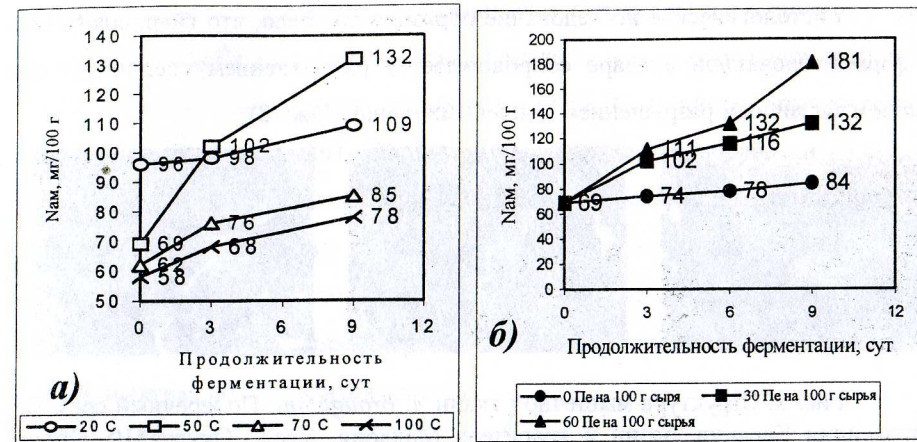


Рис. 6. Содержания аминного азота (Nam) в мышечной ткани ферментированной *A. broughtoni* в зависимости от температуры (а) предварительной обработки (концентрация ФП – 30 Пе на 100 г сырья) и концентрации (б) ФП (температура предварительной обработки – 50 °С).

Оценка качества пресервов показала, что лучшими вкусоароматическими свойствами обладали пресервы, приготовленные из сырья, бланшированного при температуре 50±2 °С в течение 20 мин и ферментированного в течение 3 сут с ФП в количестве 30 Пе на 100 г сырья. В этих образцах в процессе ферментации происходит распад белков соединительной ткани, их количество снижается на 26 % относительно их содержания в сырье (рис. 7).

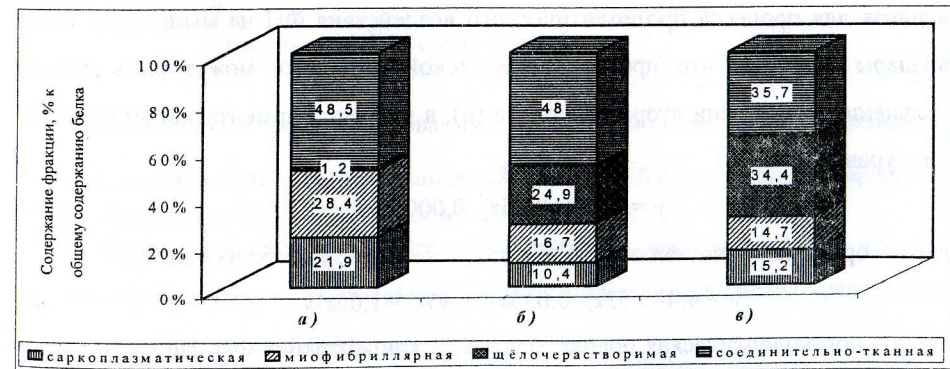


Рис. 7. Фракционный состав белков мышечной ткани *A. broughtoni*: а – анадара-сырец; б – после термообработки (температура – 50 °С, время – 20 мин); в – после ферментации термообработанного образца (концентрация ФП – 30 Пе/100 г, время – 3 сут)

Гистологическое исследование образцов показало, что гидролиз белков в ферментированной анадаре сопровождается разрыхлением соединительной ткани и частичным разрушением мышечных пучков (рис. 8).

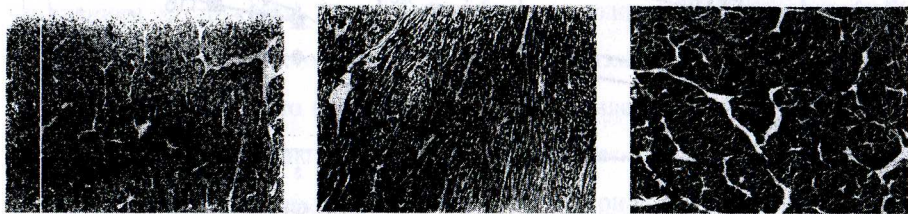


Рис. 8. Структура мышечной ткани *A. broughtoni*. Поперечный срез. Гематоксилин Караччи, эозин и краситель Маллори. Увел.: Окуляр*10. Объектив*10: *a* – анадара-сырец; *b* – после термообработки (температура – 50 °С, время – 20 мин); *c* – после ферментации термообработанного образца (концентрация ФП – 30 Пе/100 г, время – 3 сут)

Повышение температуры предварительной обработки сырья выше 50 °С приводит к снижению качества пресервов из-за неравномерного размягчения ткани, а результатом увеличения концентрации ФП до 60 Пе на 100 г сырья и (или) продолжительности ферментации до 6 – 9 сут является чрезмерное размягчение ткани анадары.

Обработка экспериментальных данных и проведение однофакторного регрессионного анализа для процесса термообработки сырья и двухфакторного анализа для процесса протеолитического воздействия ФП на мышечную ткань анадары показало, что процесс термической обработки может быть описан уравнением регрессии второго порядка (6), а процесс ферментативной обработки – уравнением (7):

$$y = 0,413 + 0,06x_1 - 0,00061x_1^2, \quad (6)$$

где y – органолептическая оценка, балл; x_1 – температура обработки, °С,

$$y = 4,4 - 0,55x_1 - 0,033x_2 - 1,45x_1^2 - 1,05x_1x_2, \quad (7)$$

где y – органолептическая оценка, балл; x_1 – концентрация ФП, Пе на 100 г сырья; x_2 – время обработки, мин.

Исследование полученных зависимостей, описываемых уравнениями (6) и (7), с высокой степенью вероятности (5 %-ный уровень значимости F–

критерия) позволило определить оптимальные параметры термической и ферментативной обработки мышечной ткани анадары при изготовлении пресервов: термообработка – температура обработки – 50±2 °С и протеолитическое воздействие – концентрация ФП – 30 Пе на 100 г сырья, время обработки – 3 сут.

С целью инактивации ФП и увеличения срока хранения пресервов ферментированную анадару обрабатывали раствором уксусной кислоты. Результаты определения активности протеаз в пресервах показали, что обработка анадары в 3 %-ном растворе уксусной кислоты в течение 20 мин приводит к полной инактивации ферментов (рис. 9).

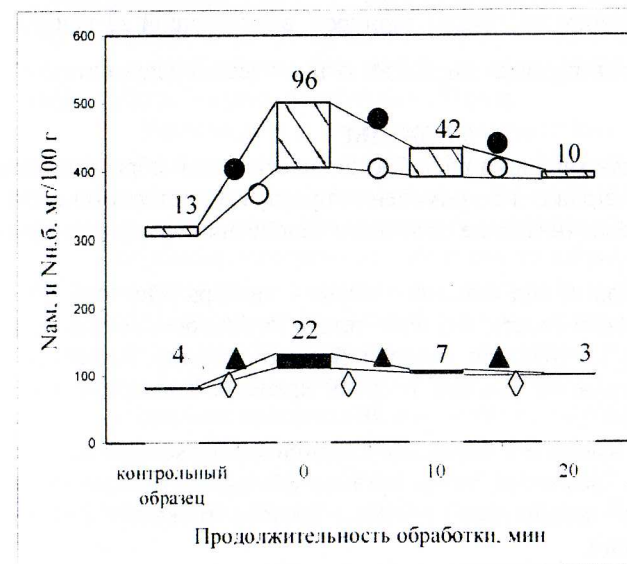


Рис. 9. Накопление небелкового (Nн.б) и аминного (Nam) азота в мышечной ткани ферментированной *A. broughtoni* в зависимости от продолжительности кислотной обработки ферментированного сырья (pH 3,2±0,2)

○ – Nam до термостатирования; ▲ – Nam после термостатирования;
 ○ – Nн.б до термостатирования; ● – Nн.б после термостатирования;
 ■ – накопление Nam; ▨ – накопление Nн.б

Проведение однофакторного регрессионного анализа показало, что кислотная обработка ферментированной анадары может быть описана уравнением регрессии второго порядка (8):

$$y = 22 - 2,5x_1 + 0,055x_1^2, \quad (8)$$

где y – накопление аминного азота, мг/100 г; x_1 – время обработки, мин.

Исследование полученной зависимости, описываемой уравнением (8), с высокой степенью вероятности (5 %-ный уровень значимости F-критерия) позволило определить, что оптимальная продолжительность обработки ферментированной анадары в 3 %-ном растворе уксусной кислоты – 20 мин.

Органолептическая, физико-химическая и гигиеническая оценка пресервов показала, что при температуре от минус 4 до минус 6 °С их качество сохраняется в течение 6 мес.

На основании сравнительного исследования качества продукции и её органолептической оценки разработан ассортимент пресервов из анадары в заливках и соусах с добавлением различных гарниров, включающий 24 наименования, и утверждена соответствующая нормативно-техническая документация.

ВЫВОДЫ

1. Научно обоснованы принципы биотехнологической обработки анадары и осьминога, заключающиеся в применении препарата протеолитического действия Крусэнзим и обеспечивающие получение безопасной продукции высокого качества.

2. Исследован новый вид пищевого сырья – анадара Броутона. Установлена гигиеническая безопасность, изучены технoхимические свойства моллюска, пищевая ценность и структура мышечной ткани органов. Разработаны способы разделки и обоснованы условия и сроки хранения анадары-сырца, а также мороженой анадары.

3. Установлено высокое содержание соединительнотканых белков и специфическая структура мышечной ткани органов анадары и осьминога, что определяет необходимость применения препарата протеолитического действия при изготовлении продукции.

На основании выявленных различий в морфологическом строении органов, химическом составе и структуре мышечной ткани анадары и осьминога обоснованы различные подходы и способы протеолиза моллюсков. Показано, что сочетание и определённая последовательность термической и протеолитической обработки моллюсков обеспечивают эффективный протеолиз тканей и позволяют регулировать консистенцию готовой продукции.

4. Определены оптимальные параметры процесса ферментативного обезшкуривания осьминога при изготовлении мороженой продукции, обеспечивающие минимальное повреждение структуры мышечной ткани: для щупалец – концентрация препарата Крусэнзим – 90 Пе на 100 г сырья, температура обработки – 40±2 °С, время обработки – 15 мин; для мантии – концентрация препарата Крусэнзим – 30 Пе на 100 г сырья, температура обработки – 40±2 °С, время обработки – 10 мин.

Установлено, что разработанные условия обработки позволяют изготовить обезшкуренный осьминог, сохраняющий качество в течение 10 мес при температуре минус 18 °С.

5. Определены оптимальные параметры обработки осьминога при изготовлении пресервов, обеспечивающие необходимую глубину протеолиза мышечной ткани и приемлемую консистенцию: для щупалец – концентрация препарата Крусэнзим – 90 Пе на 100 г сырья, температура обработки – 40±2 °С, время обработки – 20 мин; для мантии – концентрация препарата Крусэнзим – 30 Пе на 100 г сырья, температура обработки – 40±2 °С, время обработки – 15 мин; гидротермическая обработка ферментированного осьминога – температура обработки – 50±2 °С, время обработки – 25 мин.

6. Определены оптимальные параметры технологической обработки анадары при изготовлении пресервов: гидротермическая обработка ткани – температура обработки – 50±2 °С, время обработки – 20 мин; ферментативная обработка – концентрация препарата Крусэнзим – 30 Пе на 100 г сырья, время обработки – 3 сут; обработка ферментированной анадары 3 %-ным раствором уксусной кислоты – время обработки – 20 мин.

7. Разработана и утверждена нормативная документация на сырец и мороженую продукцию: «Анадара-сырец»; «Филе и мантия анадары мороженые»; «Анадара неразделанная мороженая»; «Анадара разделанная на створке мороженая»; «Осьминог обезшкуренный мороженный».

Разработан ассортимент пресервов из анадары и осьминога, включающий 29 наименований, и утверждена нормативная документация.

Воспроизводимость разработанных технологий доказана выпуском опытно-промышленных и промышленных партии продукции на ООО «Аква-технологии», ООО Р/к «Дальневосточник» и ООО «Сквид».

Основное содержание диссертации опубликовано в работах:

1. Зюзьгина А.А., Купина Н.М. Технологическая характеристика осьминога песчаного *Paractopus conispadiceus* // Биомониторинг и рациональное использование гидробионтов: Тез. докл. конф. молод. учён. – Владивосток: ТИНРО, 1997. – С. 137–138.

2. Зюзьгина А.А., Купина Н.М. Содержание макро- и микроэлементов в мягких тканях анадары *Anadara broghtoni* // Изв. ТИНРО. – 1999. – Т. 125. – С. 14–16.

3. Зюзьгина А.А., Купина Н.М. Характеристика осьминога песчаного *Paractopus conispadiceus* и гигантского *Paractopus dofleini* как сырья для производства пищевой продукции // Хранение и переработка сельхозсырья. – 2000. – № 10. – С. 40–42.

4. Зюзьгина А.А., Купина Н.М. Характеристика двустворчатого моллюска *Anadara broghtoni* как сырья для производства пищевых продуктов // Хранение и переработка сельхозсырья. – 2001. – № 1. – С. 40–42.

5. Купина Н.М., Зюзьгина А.А. Применение протеиназ гепатопанкреаса камчатского краба для обезшкуривания конечностей и мантии осьминога // Низкотемпературные и пищевые технологии в XXI веке: Тез. докл. Междунар. науч.-техн. конф. – Санкт-Петербург, 2001. – С. 306.