

На правах рукописи

Кадр -

КАДНИКОВА ИРИНА АРНОЛЬДОВНА

**БИОТЕХНОЛОГИЯ СТРУКТУРООБРАЗУЮЩИХ
ПОЛИСАХАРИДОВ ИЗ КРАСНЫХ ВОДОРΟΣЛЕЙ
И МОРСКИХ ТРАВ ДЛЯ ПРОИЗВОДСТВА
ПИЩЕВОЙ ПРОДУКЦИИ**

Специальность 05.18.07 – биотехнология пищевых продуктов
(биотехнология гидробионтов)

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
доктора технических наук

Владивосток – 2009

Работа выполнена в лаборатории проблем рационального использования водорослей Федерального государственного унитарного предприятия «Тихоокеанский научно-исследовательский рыбохозяйственный центр» (ФГУП «ТИНРО-Центр»).

Научный консультант:

доктор технических наук, профессор
Подкорытова Антонина Владимировна

Официальные оппоненты:

доктор биологических наук, профессор
Шульгина Лидия Васильевна
доктор технических наук, профессор
Каленик Татьяна Кузьминична
доктор технических наук, доцент
Немцев Сергей Владимирович

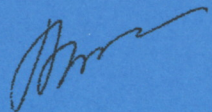
Ведущая организация: Всероссийский научно-исследовательский институт пищевой биотехнологии, г. Москва

Защита диссертации состоится 22 декабря 2009 года в 10⁰⁰ часов на заседании диссертационного совета Д 307.012.01 при ФГУП «ТИНРО-Центр» по адресу: 690091, г. Владивосток, ГСП, пер. Шевченко, 4. Факс: (4232)300-751.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГУП «ТИНРО-Центр» по адресу: 690091, г. Владивосток, ГСП, пер. Шевченко, 4.

Автореферат разослан 5 ноября 2009 г.

Ученый секретарь диссертационного совета,
доктор биологических наук



О.С. Темных

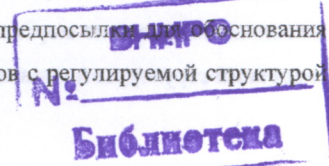
ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. В настоящее время в биотехнологии и технологии пищевых продуктов широко используют пищевые добавки – структурообразователи, обладающие биологической активностью. В наибольшей степени это относится к полисахаридам, получаемым с помощью различных биотехнологических методов из растительного сырья, в том числе из водорослей и морских трав. Полисахариды не только улучшают технологические характеристики продуктов, но и повышают их биологическую ценность. Кроме того, морские полисахариды применяют как в биотехнологии пищевых продуктов, так и в микробиологии, биотехнологии лекарственных средств и др.

Разнообразные и громадные запасы водорослей и морских трав в дальневосточных морях России, по экспертным оценкам составляющие около 40–45 млн т сырой массы (Суховеева, Подкорытова, 2008), предопределяют разработку современных способов получения полисахаридов и их применение в биотехнологии пищевых продуктов. Вопросам разработки технологий полисахаридов, изучению структуры и применения в различных областях посвящены многочисленные труды отечественных и зарубежных ученых: И.В. Кизеветтера, В.С. Грюнера, В.А. Евтушенко, Л.П. Шмельковой, В.С. Баранова, А.И. Усова, А.В. Подкорытовой, Ю.Н. Лоенко, Ю.С. Оводова, Р.Г. Оводовой, В.Б. Толстогузова, А. Haug, V.J. Chapman, E. Dickinson, D.A. Rees, J.F. Kennedy и др.

Однако недостаток теоретических и экспериментальных исследований в технологии полисахаридов с заданными свойствами, отсутствие системного представления о многоступенчатости процессов их получения, распределения по технологическим цепочкам способов модификации их структуры и регулирования состава приводят к сдерживанию развития производства полисахаридов и их использования в биотехнологических целях в нашей стране.

Таким образом, существуют объективные предпосылки для обоснования научных принципов биотехнологии полисахаридов с регулируемой структурой



и заданными свойствами из красных водорослей и морских трав, а также на их основе пищевых и функциональных продуктов.

Результаты исследований, представленные в диссертационной работе, выполнялись в соответствии с тематическим планом НИР ТИНРО-Центра, составленным согласно контракту с Федеральным агентством по рыболовству, с 1996 по 2008 г.

Концепция направленной модификации полисахаридов в технологии их получения из красных водорослей и морских трав и развития биотехнологических аспектов их применения заключается:

- в модификации морских полисахаридов вследствие удаления части ионных групп и изменения соотношения в них мономеров, что обеспечивает высокие структурообразующие свойства агара, агарозы, каррагинана, филлорината;

- применении физико-химической модификации структуры полисахаридов при их получении в одном технологическом цикле из смеси красных водорослей *C. armatus* и *A. tobuchiensis*;

- регулировании структурно-механических свойств пищевых продуктов полисахаридами разной структуры, варьированием их концентрации, а также вкусовых добавок и структурообразующих катионов;

- создании физико-химических условий для повышения регулярности структуры полисахаридов при получении чистых препаратов, используемых для получения сорбентов и носителей для хроматографии, диагностических и промышленных микробиологических сред, матриц для иммобилизации животных клеток.

В соответствии с основными положениями концепции поставлена цель и определены направления исследований.

Цель работы: создать научно обоснованные технологии модифицированных полисахаридов из морского растительного сырья, применяемых при регулировании структуры пищевых систем и в биотехнологии.

Для реализации поставленной цели сформулированы следующие задачи:

- провести анализ современного состояния и тенденций развития технологий морских полисахаридов из красных водорослей и трав;

- разработать концепцию направленной модификации морских полисахаридов в технологии их получения на основе аналитических данных об отечественных и зарубежных экспериментальных исследованиях;

- разработать классификацию морских красных водорослей и трав в зависимости от особенностей химического состава, обосновать выбор сырья и направленность технологического процесса для получения полисахаридов с регулярной структурой и заданными свойствами;

- исследовать структуру и свойства полисахаридов из сырья, принадлежащего к разным классификационным группам;

- обосновать принципы модификации полисахаридов на различных стадиях технологического процесса;

- научно обосновать и разработать технологию фракционного извлечения полисахаридов с регулярной структурой из смеси водорослей;

- научно обосновать и разработать способы применения полисахаридов для регулирования структуры продуктов на основе рыбного и растительного сырья;

- научно обосновать технологии получения высокоочищенных полисахаридов для применения в микробиологии и биотехнологии;

- разработать НД на производство полисахаридов и пищевых продуктов с регулируемой структурой;

- разработать исходные требования на унифицированную технологическую линию по производству модифицированных полисахаридов;

- разработать бизнес-план и оценить экономическую эффективность разработанных технологий модифицированных полисахаридов.

Научная новизна. Сформулирована научно обоснованная концепция направленной модификации полисахаридов из красных водорослей и морских

трав, обеспечивающей регулярность их структуры и стабильность функционально-технологических свойств.

✓ Разработан принцип классификации морских красных водорослей и трав по химическому составу, определяющей направленность технологического процесса для получения полисахаридов с регулярной структурой.

Установлена зависимость между составом моносахаридов, их содержанием и функционально-технологическими свойствами полисахаридов из разных классификационных групп сырья.

✓ Обоснованы и разработаны способы направленной модификации структуры полисахаридов красных водорослей и морских трав методом изменения соотношения ионогенных групп и моносахаридов на различных стадиях технологического процесса.

✓ Впервые обоснован процесс фракционного экстрагирования полисахаридов при получении высокоочищенного агара и агарозы, являющихся основой для хроматографических и диагностических препаратов, питательных сред и матриц в микробиологических и биотехнологических исследованиях.

✓ Впервые созданы научные основы и разработана технология переработки смеси красных водорослей *C. armatus/A. tobuchiensis*, предусматривающая фракционное извлечение в одном технологическом цикле разных по химической структуре и физическим свойствам полисахаридов – каррагинана и агара.

Разработаны научно-экспериментальные основы применения модифицированных полисахаридов с регулярной структурой и заданными структурно-механическими свойствами в пищевых технологиях, в микробиологических исследованиях и биотехнологии.

Выявлены закономерности регулирования структуры пищевых продуктов в результате применения модифицированных полисахаридов.

Практическая значимость работы и реализация результатов. Создана концептуальная и методологическая база для промышленного внедрения технологий полисахаридов с регулярной структурой и пищевых продуктов на их основе.

Обоснована необходимость расширения сырьевой базы дальневосточного промышленного бассейна за счет освоения новых видов морских растений и их вовлечения в сферу промышленной добычи и переработки.

Разработана технология получения агара и агарозы в одном технологическом цикле при комплексной переработке анфельции.

Разработаны методические рекомендации по исследованию полисахаридов из красных водорослей.

Разработана технология рациональной переработки смеси красных водорослей, позволяющая получать каррагинан и агар в одном технологическом процессе, основанная на последовательном экстрагировании полисахаридов.

Разработана технология получения филлорина и филлорината натрия из нового вида сырья – морской травы филлоспадикса, что расширяет перечень пищевых добавок и сырья, используемого для их производства.

Разработаны биотехнологии производства пищевой гелеобразной и эмульсионной продукции с применением полисахаридов из красных водорослей и морской травы.

Проведена производственная проверка разработанных технологий получения каррагинана и агара из смеси красных водорослей, филлорина и филлорината из морской травы филлоспадикса, высокоочищенного агара и агарозы из дальневосточной анфельции. Подтверждена возможность их использования для производства гелеобразных и эмульсионных пищевых продуктов, а также в биотехнологии и микробиологии.

Новизна технических решений защищена патентами на изобретение (Патент РФ № 2109461; Патент РФ № 211313; Патент РФ № 2189990; Патент РФ № 2223663).

Практическая значимость результатов работы подтверждена разработанными нормативными документами: ТИ № 36-58-95 по изготовлению пищевых каррагинана и агара из смеси красных водорослей анфельция-хондрус к ТУ № 8411-008-00472012-93; ТИ № 36-132-2000 по изготовлению агарозы к ТУ № 9284-150-

00472012-2000; ТИ № 36-229-02 по изготовлению филлорина-полуфабриката к ТУ 9284-222-00472012-02; ТИ № 36-244-03 по изготовлению изделия желейного «Мозаика» к ТУ № 9284-245-00472012-03; ТИ № 36-218-03 по изготовлению филлорината натрия к ТУ № 9284-223-00472012-03; ТИ № 36-293-05 по изготовлению изделия желейного «Фантазия» к ТУ № 9284-293-00472012-05; ТИ № 36-133-2000 по изготовлению консервов «Суфле лососевое» к ТУ 9271-182-00472012-2000; ТУ № 9254-132-00472012-98 на траву морскую – сырец; ТИ № 36-151-03 по изготовлению сушеной анфельции к ТУ № 9284-131-00472012-03; ТИ № 36-247-03 по добыче, сбору и первичной обработке анфельции-сырца к ТУ № 9254-129-00472012-03; ТИ № 36-246-03 по добыче, сбору и первичной обработке хондруса-сырца к ТУ № 9254-248-00472012-03, ТУ № 9284-249-00472012-03 «Хондрус воздушно-сухой».

Разработаны исходные требования на проектирование унифицированной линии по получению полисахаридов морских водорослей и трав.

Разработаны рекомендации по использованию каррагинана и альгината как стабилизаторов в пищевой промышленности.

Разработан бизнес-план и рассчитана экономическая эффективность внедрения комплекса технологий модифицированных полисахаридов из дальневосточных красных водорослей и морских трав на ООО "КАЗ" г. Корсаков.

Достоверность результатов исследований подтверждается применением современных методов исследований при характеристике сырья, технологического процесса и готовых продуктов, математической оценки достоверности результатов работ.

Основные научные положения, выносимые на защиту

1. Научная концепция направленной модификации полисахаридов в технологии их получения из красных водорослей и морских трав, основанной на изменении моносахаридного состава и ионогенных групп и обеспечивающей регулярность их структуры и стабильность функционально-технологических свойств.

2. Принцип классификации сырья по химическому составу, определяющей направленность технологического процесса получения полисахаридов заданного состава из красных водорослей и морских трав.

3. Технологии структурной модификации полисахаридов морских трав, красных водорослей и смесей водорослей, принадлежащих к разным классификационным группам.

4. Способы регулирования структурно-механических свойств продуктов различного назначения полисахаридами с модифицированной структурой.

Апробация работы. Результаты научных исследований по проблеме ежегодно рассматривались на отчетных сессиях ТИПРО-Центра.

Основные результаты работы были представлены и обсуждены на международных и российских научных конференциях, симпозиумах: «Рациональное использование биоресурсов Тихого океана», Владивосток, 1991; «Биологически активные добавки как компоненты к пище», Владивосток, 1999; «Человек-Экология-Культура на пороге XXI века», Находка, 2000; «Пищевой белок и экология», Москва, 2000; «Современные средства воспроизводства и использования водных биоресурсов», 7-я международная выставка Инрыбпром-2000, Санкт-Петербург, 2000; «Наука-Техника-Технология на рубеже третьего тысячелетия», Находка, 2001; «Низкотемпературные пищевые технологии и продовольственная безопасность в XXI веке», Санкт-Петербург, 2001; «Пища, экология, человек», Москва, 2001; «Наука-Техника-Технология на рубеже третьего тысячелетия», Находка, 2001; 17th International Seaweed Symposium, South Africa, Capetown, 2001; «Прибрежное рыболовство – XXI век», Южно-Сахалинск, 2001; «III Asian Pacific Phycological Forum Algae», Tsucuba, 2002; 1-я Международная конференция «Морские прибрежные экосистемы: водоросли, беспозвоночные и продукты их переработки», Москва, 2002; «Наука-Техника-Технология на рубеже третьего тысячелетия», Находка, 2002; «Приморье – край рыбацкий», Владивосток, 2002; «Современные проблемы качества потребительских товаров и продуктов общественного питания», Санкт-Петербург, 2002; «Производство рыбных продуктов: проблемы, новые технологии, качество», Калининград, 2003, «Наука-Техника-Технологии», Находка, 2003; 18th International Seaweed Symposium», Bergen, 2004; «Пищевые биотехнологии: про-

блемы и перспективы в XXI веке», Владивосток, 2004; 2-я Международная конференция «Морские прибрежные экосистемы: водоросли, беспозвоночные и продукты их переработки», Архангельск, 2005; «Повышение эффективности использования водных биологических ресурсов Мирового океана», Москва, 2005; «Рыбхозозяйственные исследования Мирового океана», Владивосток, 2005; конференция по пищевой и морской биотехнологии, Калининград, 2006, «Здоровье нации – основа процветания России», Москва, 2007; «Фундаментальные и прикладные проблемы питания», Санкт-Петербург, 2007; «Производство рыбной продукции: проблемы, новые технологии, качество», Светлогорск, 2007; «Морские прибрежные экосистемы. Водоросли, беспозвоночные и продукты их переработки», Владивосток, 2008.

Публикации. Результаты исследований опубликованы в 71 печатной работе: в монографии (в соавторстве), главе в монографии, 35 научных статьях и материалах конференций, из них 17 статей в изданиях, рекомендованных ВАК; 30 тезисах докладов. Новизна технического решения подтверждена 4 патентами РФ.

Структура и объем диссертации. Диссертация изложена на 466 стр. Состоит из введения, восьми глав, выводов, списка литературы, включающего 411 источников, в том числе 170 на иностранных языках, приложения — 57 документов. Включает 71 таблицу, 71 рисунок. В приложении приведены документы, подтверждающие внедрение результатов исследования, нормативная документация, патенты, протоколы дегустационных совещаний, акты производственных испытаний технологий.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Во введении кратко изложено состояние проблемы на современном этапе, обоснована актуальность, поставлена цель исследований и определены задачи, сформулированы основные научные положения диссертации, составляющие ее новизну, показана практическая значимость работы.

Глава 1. Современное состояние и основные тенденции развития технологии полисахаридов из морского растительного сырья

Обзор литературы состоит из разделов, в которых проводится анализ информации источников отечественной и зарубежной литературы по изучаемой проблеме. Приводятся известные данные о структуре и физико-химических свойствах полисахаридов красных водорослей и морских трав. Анализ данных показывает целесообразность корректировки структуры природных полисахаридов для усиления их гелеобразующих свойств и обосновывает необходимость разработки технологий получения полисахаридов с регулярной структурой и заданными свойствами и их использования для получения структурированных пищевых продуктов.

Дана краткая характеристика биологии и химии морского растительного сырья, используемого для получения полисахаридов. Систематизированы данные о способах получения полисахаридов морских водорослей и трав. Представлены современные тенденции применения полисахаридов в пищевой технологии и биотехнологии.

Глава 2. Организация проведения исследований, объекты и методы

В главе дана характеристика объектов, приведены методы исследований и представлен методологический подход, который заключается в проведении многоуровневых исследований, начиная от анализа информации и заканчивая конкретными технологиями (рис. 1).

Работа проводилась с использованием информационных данных по проблеме, имеющихся в отечественных и зарубежных источниках литературы с использованием информационной системы Интернет.

В качестве объектов исследований использовали разные виды водорослей и трав (табл. 1).

В качестве материалов для исследований использовали экспериментальные и промышленные полисахариды – агар, агарозу, альгинат, филлоринат, а

также экстракты и гели полисахаридов, гелеобразные, паштетообразные и эмульсионные пищевые системы.

Объекты исследования

Таблица 1

Наименование объекта	Район сбора
Красные водоросли	
<i>Ahnfeltia tobuchiensis</i> (Kamio et Matsubara) V. Mak.	Прол. Старка и бухта Славянка, зал. Петра Великого, зал. Измены Южно-Курильского района
<i>Gracilaria verrucosa</i> (Huds.) Papenf.	Амурский залив, зал. Восток
<i>Gelidium amansii</i> (Gelidium elegans Kutz)	Чечжу, Квянг, побережье Республики Корея
<i>Porphyra umbricalis</i> (L.) Kutz	Бухта Спасение, Камчатка
<i>Porphyra ochotensis</i> Nagai	Зал. Петра Великого
<i>Odontalia corymbifera</i> (Gmel) J. Ag	Мыс Бакланый
<i>Odontalia ochotensis</i> (Rupr) J. Ag	Мыс Туманный, район Каменки
<i>Tichocarpus crinitus</i> (Gmel) Rupr	Зал. Петра Великого
<i>Meristotheca papulosa</i>	Теджу-до, побережье Республики Корея
<i>Chondrus armatus</i> (Harv.) Okam.	Зал. Измены Южно-Курильского района, зал. Петра Великого
Смесь с различным массовым соотношением <i>A. tobuchiensis</i> и <i>C. armatus</i> (20 : 80; 30 : 70; 40 : 60)	Зал. Измены Южно-Курильского района
Морские травы	
<i>Phyllospadix iwatensis</i> Makino	Восточное побережье о. Путятин, мыс Бартенева
<i>Zostera marina</i>	Зал. Петра Великого
<i>Zostera nana</i>	Зал. Петра Великого
<i>Zostera asiatica</i>	Зал. Петра Великого

В процессе проведения экспериментов, опытно-промышленных разработок определяли комплекс физико-химических, химических, микробиологических и органолептических показателей стандартными и общепринятыми, модифицированными и нами разработанными методами.

В работе использовали современные методы физико-химического анализа: атомно-адсорбционную спектрофотометрию, газожидкостную хроматографию (ГЖХ), высокоэффективную жидкостную хроматографию (ВЭЖХ), ^{13}C -ЯМР-спектроскопию, микробиологические и токсико-биологические методы исследования полисахаридов и пищевой продукции.

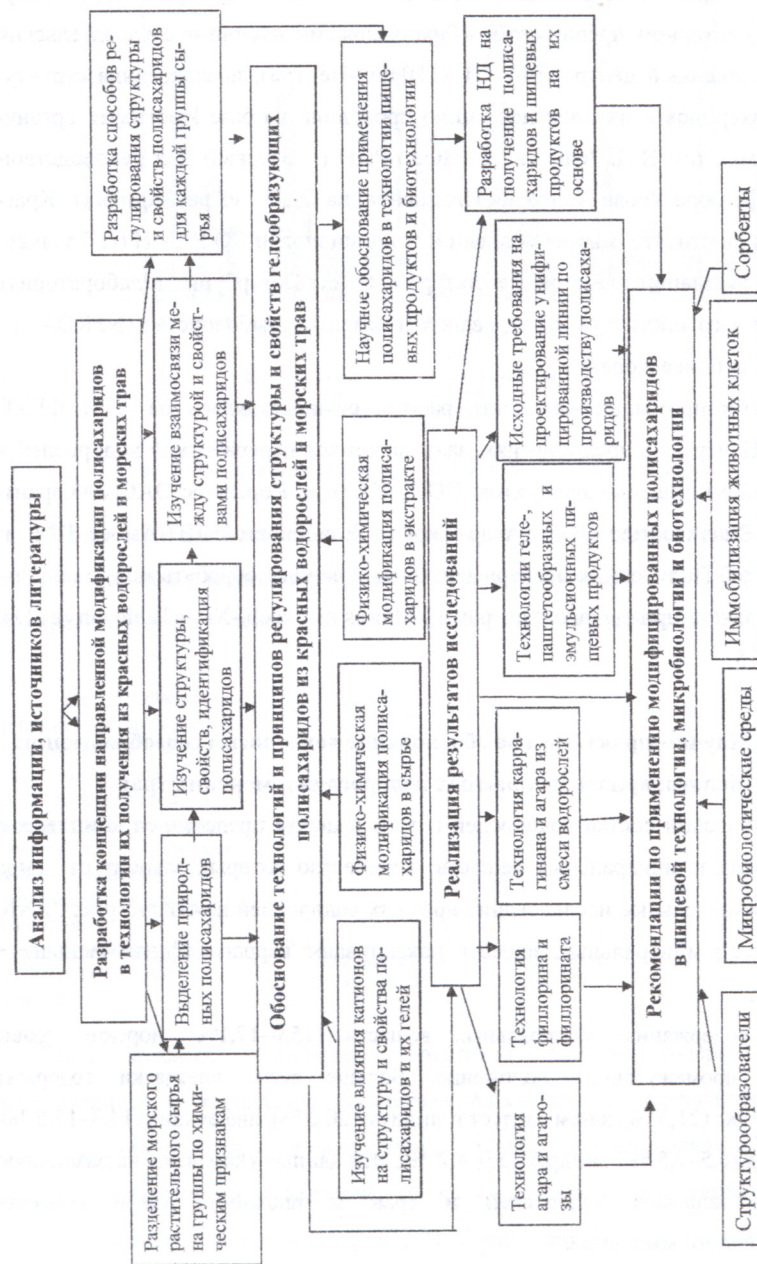


Рис. 1. Схема проведения исследований

Научно-исследовательские работы выполнялись в Федеральном государственном унитарном предприятии «Тихоокеанский научно-исследовательский рыбохозяйственный центр» (ФГУП «ТИНРО-Центр»); исследования структуры полисахаридов и их идентификацию проводили на базе Института органической химии им. Н.Д. Зелинского (ИОХ) РАН (г. Москва) под руководством д.х.н. профессора Усова Анатолия Ивановича, на ОАО «Красфарма» (г. Красноярск), в Институте микробиологии и эпидемиологии СО РАМН (г. Владивосток), в Ассоциации клеточных культур (г. Санкт-Петербург), в лабораториях Национального института исследования и развития рыболовства (NFRDA) (г. Пусан, Республика Корея).

Опытно-промышленная часть работы осуществлялась на ЭТП ФГУП «ТИНРО-Центр», на предприятиях, занимающихся переработкой водорослей и изготовлением пищевых продуктов: ООО «КАЗ», г. Корсаков; ОАО «Амарант-плюс», г. Владивосток; ООО «Агар-агар», г. Владивосток; ИП Амоев Т.М., г. Владивосток. Полученные экспериментальные данные обрабатывали с использованием пакета прикладных программ «Microsoft Excel»-XP, «Table curve 3D», Statistica 5.5.

Глава 3. Научно-практическое обоснование технологий гелеобразующих полисахаридов из красных водорослей и морских трав

Химический состав водорослей и трав в целом представлен комплексом органических и минеральных веществ, количество которых зависит от вида сырья. Сравнительные исследования красных водорослей показали (рис. 2), что больше всего минеральных веществ накапливают каррагинофиты, меньше – агарофиты.

По содержанию минеральных веществ (15,9–17,1%) морские травы занимают промежуточное положение. Больше всего клетчатки содержит филлоспадикс (21,3 %), затем следует гелидиум (20,0 %), анфельция (14,3–17,6 %), грацилярия (6,5–7,5 %), хондрус (5,9–7,2 %). Эти данные указывают на различную жесткость талломов водорослей и трав и прочность связи белково-полисахаридного комплекса.

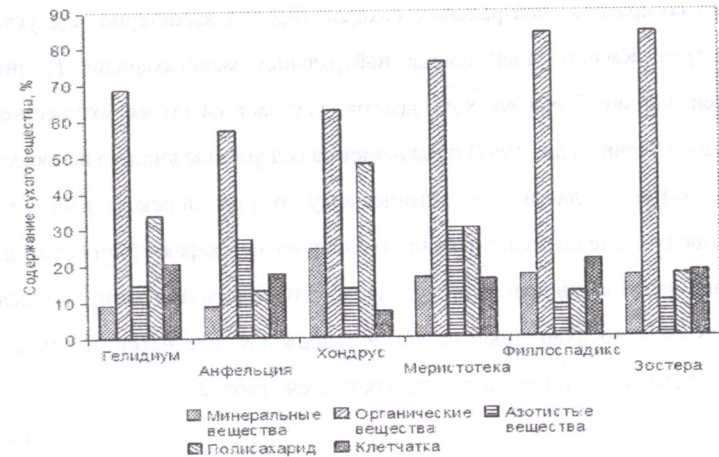
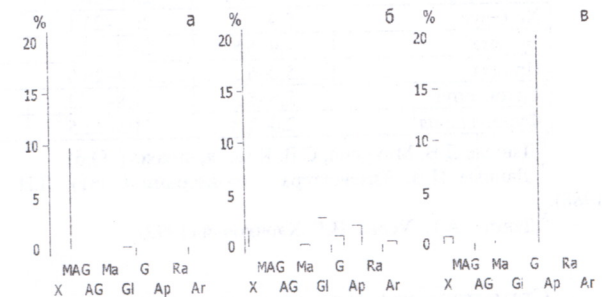


Рис. 2. Химический состав красных водорослей и морских трав

При исследовании моносахаридного состава установлены большие различия по содержанию галактозы, 3,6-ангидрогалактозы и 2-О-метил-3,6-ангидрогалактозы в углеводном составе водорослей и трав (рис. 3).

Рис. 3. Моносахаридный состав красных водорослей и морских трав: а – анфельция; б – филлоспадикс; в – хондрус; Ар – арабиноза, Ar – арабиноза, Gl – глюкоза, Ma – манноза, Ra – рамноза, X – ксилоза, G – галактоза, A – 3,6-ангидрогалактоза, MAG – 2-О-метил-3,6-ангидрогалактоза



Для красных водорослей характерно высокое содержание этих моносахаридов, являющихся компонентами полисахаридов – каррагинана и агара.

В составе нейтральных моносахаридов филлоспадикса наряду с маннозой, глюкозой, ксилозой и галактозой обнаружены апиоза, арабиноза, рамноза, отсутствующие в красных водорослях. Наличие апиозы, арабинозы и рамнозы,

невысокое содержание нейтральных сахаров (8,2 %) характерно для углеводов морских трав. Качественный состав нейтральных моносахаридов *P. iwatensis* аналогичен составу *Z. marina*, хотя заметно уступает ей по их количественному содержанию (Лоенко и др., 1997) и указывает на содержание кислого полисахарида.

Совокупность данных по химическому составу морского растительного сырья позволяет сделать заключение, что основными характеристиками для установления направленности технологического процесса получения полисахаридов являются моносахаридный состав и содержание клетчатки, характеризующей прочностные свойства растительных тканей (табл. 2).

Таблица 2

Химические характеристики сырья для производства структурообразователей, % сухого вещества

Наименование сырья	Клетчатка	Галактоза	3,6-ангидрогалактоза
Филлоспадикс	20,6–21,3	0,95–1,0	–
Зостера	16,6–17,9	0,90–1,0	–
Гелидиум	13,7–20,0	10,5–11,8	8,0–10,0
Анфельция	12,0–15,6	8,2–9,0	6,3–7,5
Грацилярия	10,2–14,2	10,5–17,4	9,5–10,0
Одонтолия	5,6–8,0	9,2–12,5	4,4–6,2
Порфира	2,5–6,1	9,7–20,0	3,7–8,8
Филлофора ¹	1,3–13,0	25,8–26,5	12,4–13,0
Хондрус	5,9–7,2	20,1–23,1	10,2–12,3
Эухема ²	4,9–6,8	24,2–25,2	12,2–13,2
Иридея ³	5,0–6,5	24,8–26,0	10,6–11,8
Тихокарпус	2,6–5,5	22,8–23,2	10,7–12,0
Фурцеллярия ¹	2,4–3,8	21,5–22,5	13,5–14,1

¹ Данные Д.В. Микулич, С.В. Красильникова (1986).

² Данные И.В. Кизеветтера с соавторами (1981), Л.П. Шмельковой с соавторами (1988).

³ Данные А.И. Усова, Н.Г. Ключковой (1992).

Статистическая обработка экспериментальных данных по химическому составу сырья многомерным шкалированием позволяет разделить его на три группы по клетчатке и галактозе (рис. 4).

Кластерный анализ по методу Уорда (Ward, 1963) подтверждает, что объекты по сходству в содержании клетчатки и галактозы можно разделить на три крупных кластера, образованных соответственно двумя или тремя мелкими (рис. 5).

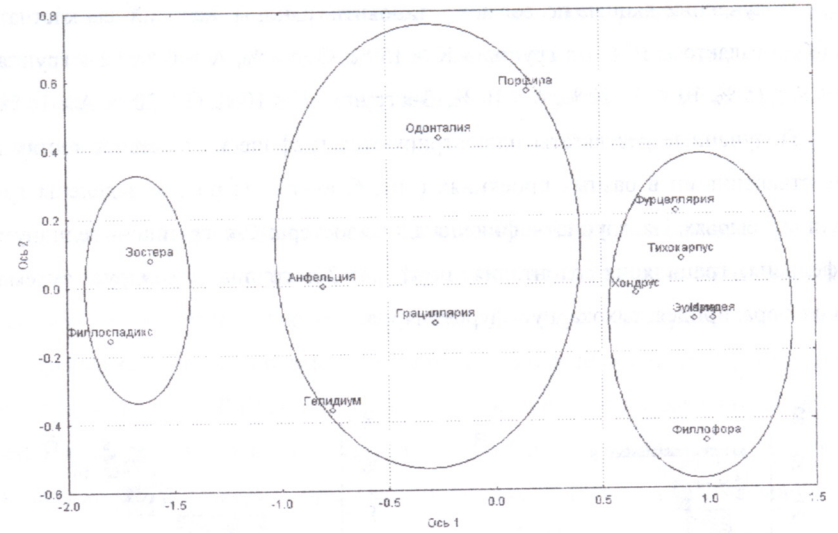


Рис. 4. Распределение красных водорослей и трав при сочетании двух признаков клетчатки-галактоза

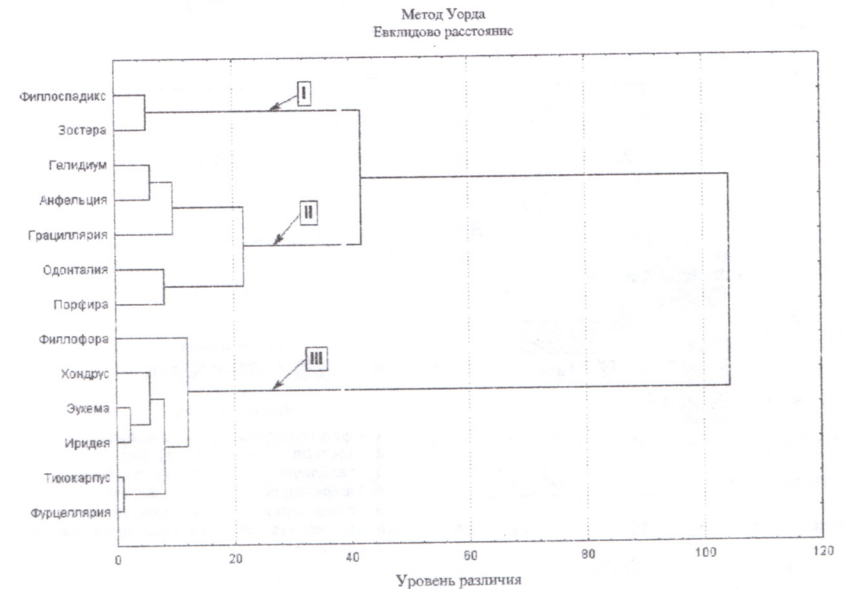


Рис. 5. Дендрограмма сходства красных водорослей и морских трав по содержанию клетчатки и галактозы

Полученные данные позволяют установить границы значений для клетчатки (К) и галактозы (G): 1-я группа – $K > 15\%$, $G < 1\%$, $A = 0\%$; 2-я группа: $10 < K < 15\%$, $10 < G < 20\%$, $A < 10\%$; 3-я группа: $K < 10\%$, $G > 20\%$, $A > 10\%$.

Полученные результаты иллюстрируются графическими зависимостями, представленными в разных проекциях (рис. 6, а–в). На рис. 6 выделены три группы сырья: 1-я группа – филлоспадикс-зостера; 2-я группа – гелидиум, анфельция, грацилярия, одонтолия, порфира; 3-я группа – хондрус, эухема, филлофора, иридея, тихокарпус, фурцеллярия.

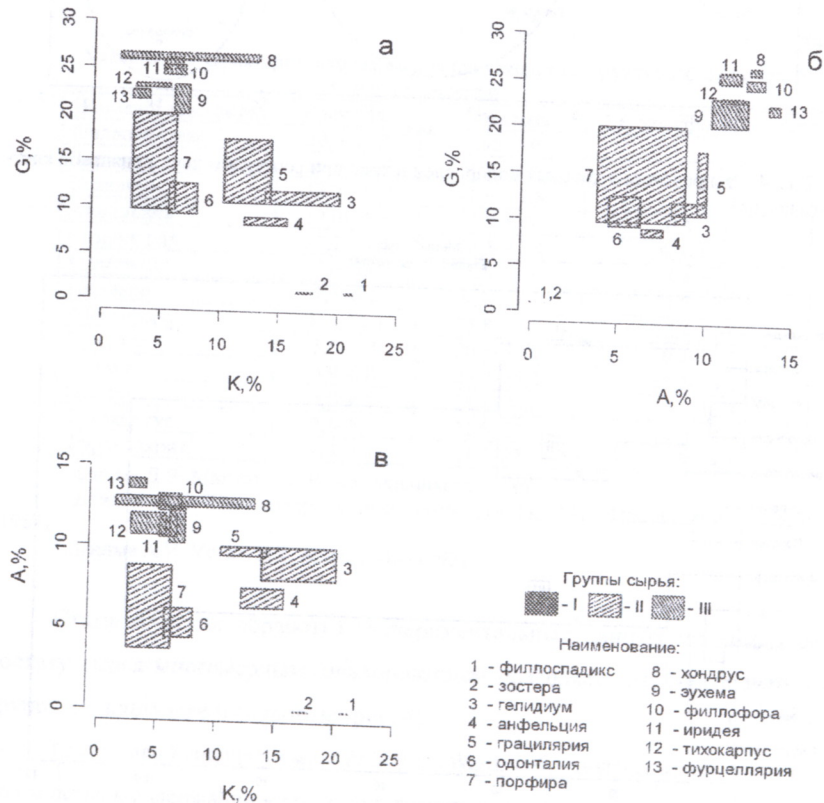


Рис. 6. Классификация красных водорослей и морских трав на группы по химическим характеристикам: К – клетчатка, G – галактоза, А – 3,6-ангидрогалактоза

Представленная модель классификации морского растительного сырья позволяет определить принадлежность растения к определенной группе и прогнозировать технологический процесс получения полисахарида с заданными свойствами.

Глава 4. Исследование структуры морских полисахаридов

В данной главе показано, что для структуры природных полисахаридов красных водорослей характерно неравномерное распределение 3,6-ангидрогалактозы вдоль полимерной цепи, высокое содержание сульфатных или метильных групп. ЯМР-спектроскопия природного полисахарида хондруса выявила сигнал химического сдвига при 104,8 м.д. приложенного поля, соответствующий сульфату при шестом углеродном атоме 4-замещенной D-галактозы полимерной цепи полисахарида (рис. 7). Показано, что каррагинан из хондруса относится к каппа-йота-гибриду с содержанием йота-компонента 20 %.

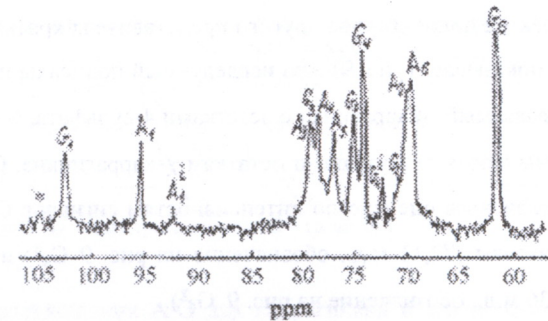


Рис. 7. Спектр ^{13}C -ЯМР природного каррагинана

Наличие остатков 6-сульфата D-галактозы свидетельствует, что природные полисахариды имеют структуру, отклоняющуюся от регулярной, что можно оценить по содержанию сульфатных групп и соотношению A/G. Установлено, чем выше содержание сульфатных групп в полисахаридах, тем меньше прочность образуемых гелей. Обратная зависимость показана в отношении мо-

носахаридного состава: чем выше показатель A/G, тем выше прочность геля (рис. 8).

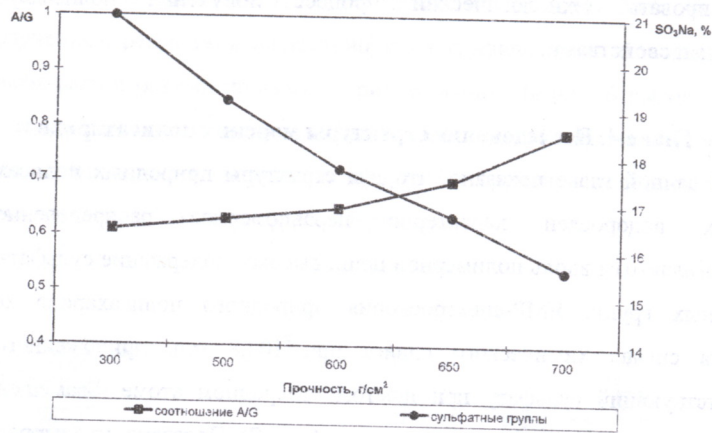


Рис. 8. Зависимость прочности 2 %-ного геля каррагинана от соотношения A/G и содержания SO_3Na

Анализ спектра полисахарида другого представителя красных водорослей — *M. papulosa* — показывает (рис. 9), что исследуемый полисахарид представляет собой так называемый ι -каррагинан с остатками 4-сульфата, 6-сульфата, 6-О-метил-каррабиозы, соответствующими остаткам χ -каррагинана. Относительное содержание этих звеньев оценено по интенсивностям сигналов C-4 остатков 4-сульфата Д-галактозы (72,11 м.д., обозначение на рис. 9 G_4^x) и 6-О-метил-Д-галактозы (100,36 м.д., обозначение на рис. 9 G_6^x).

Каррагинан из *M. papulosa* является ι - χ -каррагинаном с содержанием ι -компонента более 80 % и сульфатных групп до 30 %, свойства которого как гелеобразователя также слабо выражены. Установлено, что при содержании 20 % ι -каррагинана гелеобразующие свойства каррагинана *S. armatus* выражены сильнее по сравнению с полисахаридом меристотеки.

Сравнительный анализ моносахаридного состава природных полисахаридов красных водорослей показал, что в каррагинане содержание 3,6-А (21,0 %)

и G (37,7%) ниже, чем у агара. Главное отличие каппа-каррагинана от агара состоит в том, что он не содержит 2-О-метил-3,6-ангидрогалактозу (табл. 3).

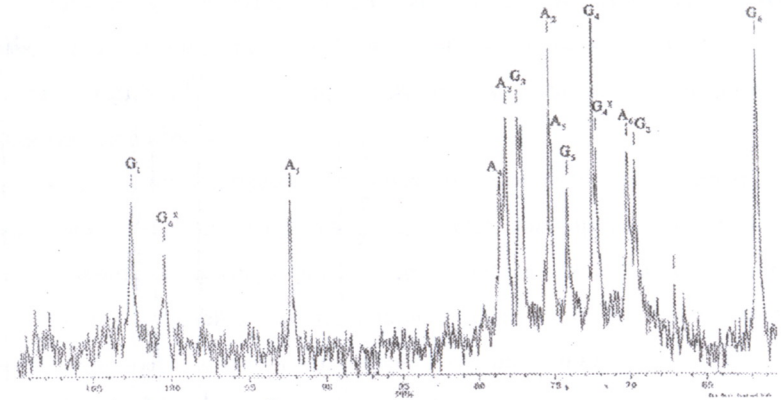


Рис. 9. ЯМР ^{13}C -спектр полисахарида меристотеки

Таблица 3

Моносахаридный состав природных полисахаридов красных водорослей, % от сухого вещества

Полисахарид	Моносахариды					A/G
	Ксилоза	2-О-метил-3,6-Аг	3,6-Аг	Глюкоза	Галактоза	
Каррагинан	—	—	21,0	—	37,7	0,62
Агар	—	5,6	32,2	—	50,9	0,82

Примечание. Аг — ангидрогалактоза, G — галактоза.

Разные соотношения A/G для каррагинана и агара свидетельствуют о том, что по регулярности структуры и содержанию моносахаридов полисахариды значительно различаются. Содержание сульфогрупп в χ -каррагинане в среднем составляет 20 % и превосходит в 20 раз их количество в агаре (1,0 %). В отношении агара его гелеобразующие свойства в большей степени зависят от содержания в нем фракции высокорегулярной агарозы.

Установлено, что полисахарид филлоспадикса представляет собой галактуронан, который является главной цепью макромолекулы пектина; на спектре

^{13}C -ЯМР этого полисахарида имеется сигнал аномерного углеродного атома C-1 при 100,6 м.д., указывающий на присутствие фрагмента 4-связанной α -D-галактурановой кислоты-1 (рис. 10).

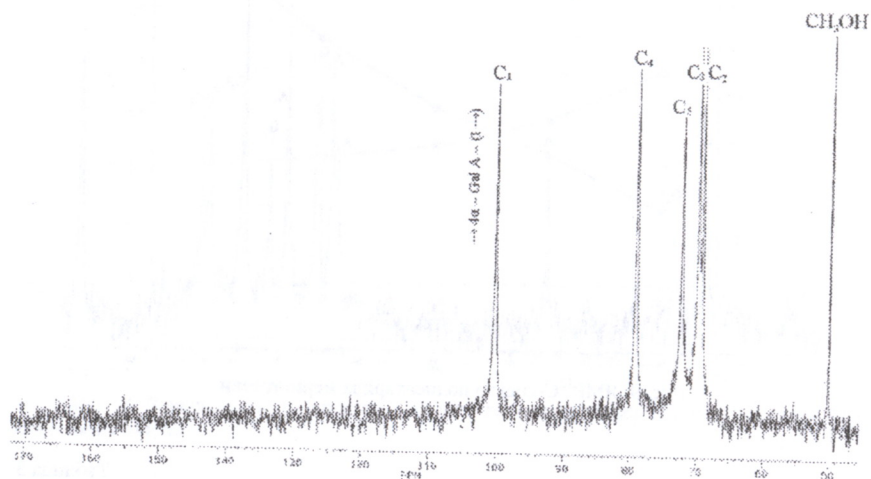


Рис. 10. ^{13}C -ЯМР-спектр частично деградированного полисахарида филлоспадикса

Для полисахарида филлоспадикса характерно высокое содержание метилированных карбоксильных групп полигалактурановой кислоты в пределах 6,5–6,9 %.

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о нерегулярности структуры природных морских полисахаридов и, как следствие, об их невысоких структурообразующих свойствах, что обуславливает необходимость их модификации.

Глава 5. Модификация структуры полисахаридов

из морского растительного сырья

Модификация полисахаридов проводилась в соответствии с разделением водорослей и морских трав на группы.

Первая группа сырья. Для получения двух вариантов полисахарида – филлорина и филлорината – из филлоспадикса использовано кислотное деметоксилирование при температуре 50–80 °С.

Установлено, что температура является главным фактором, влияющим на выход полисахарида и его свойства. При этом влияние температуры проявляется в большей степени при использовании высоких концентраций модифицирующего агента.

На основании полученных данных составлены математические модели зависимости выхода и молекулярной массы филлорината от технологических параметров: температуры, продолжительности и концентрации кислоты. Анализ моделей позволил выявить области оптимальных значений параметров процесса модификации первой группы сырья.

На рис. 11 показано, что максимальный выход достигается при следующих параметрах процесса: концентрация HCl – 1,0 %, температура – 85 ± 5 °С, продолжительность – 2 ч (область максимального выхода на рисунке определена значениями: $x = 0,01$; $y = 0,85$; $z = 0,128$). Как установлено, при оптимальной концентрации модифицирующего агента результатом является высокая молекулярная масса полисахарида (рис. 12) (область максимальной молекулярной массы: $x = 0,01$; $y = 0,55$; $z = 0,2245$). Представленные материалы получены статистической обработкой экспериментальных данных в результате планирования трехфакторного эксперимента.

Разработанный процесс позволил повысить регулярность структуры за счет отщепления части метоксильных и ацетильных групп и увеличения доли карбоксильных групп (табл. 4) и получить филлорин и практически чистый филлоринат натрия, что подтверждено ^{13}C ЯМР-спектроскопией с содержанием галактурановой кислоты 89,1 %. В результате модификации прочность геля филлорината увеличилась в 4 раза по сравнению с исходной, 280 против 70 г/см².

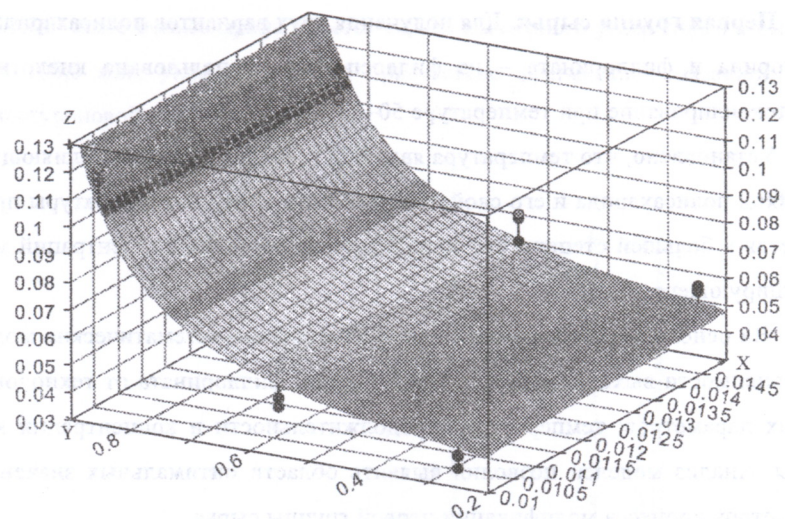


Рис. 11. Влияние концентрации кислоты и температуры на выход полисахарида (продолжительность 2 ч) при модификации полисахарида в филлоспадиксе: ось x – концентрация C/C_{\max} ($C/100\%$); ось y – температура t/t_{\max} ($t/100\text{ }^\circ\text{C}$); ось z – выход полисахарида B/B_{\max} ($B/100\%$)

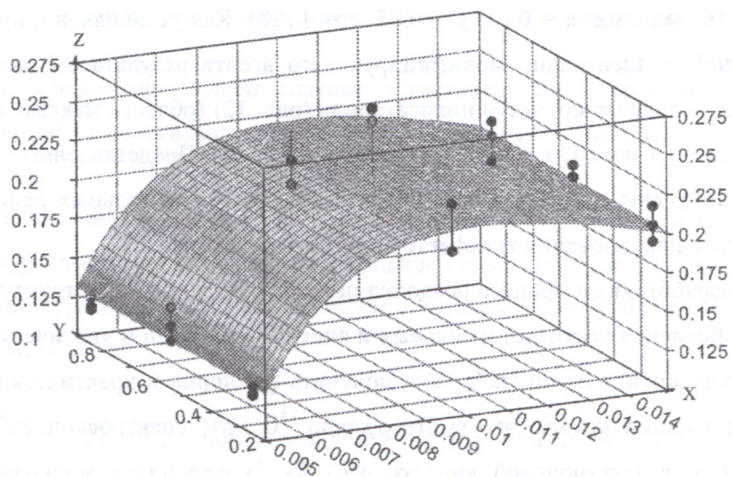


Рис. 12. Влияние концентрации HCl и температуры на молекулярную массу филлорината (продолжительность 2 ч) при модификации полисахарида в филлоспадиксе: ось x – концентрация $C/100\%$; ось y – температура $t/100\text{ }^\circ\text{C}$; ось z – молекулярная масса полисахарида $MM/100\text{ кДа}$

Влияние температуры кислотного деметоксирования на состав и степень метоксирования филлорината

Условия обработки	Кс	М	Ац	$\lambda, \%$
1% HCl, 20 $^\circ\text{C}$, 2 ч	3,0	4,0	0,2	45,0
1% HCl, 50–55 $^\circ\text{C}$, 2 ч	3,4	3,6	0,1	42,8
1% HCl, 80–85 $^\circ\text{C}$, 1 ч	6,0–7,0	3,6	Отсут.	40,0
1% HCl, 80–85 $^\circ\text{C}$, 2 ч	6,5–7,5	3,1	Отсут.	35,8

Примечание. Свободные карбоксильные – Кс, метоксированные карбоксильные – М и ацетильные группы – Ац.

В результате проведенных исследований разработана технология и нормативная документация на производство «Филлорина-полуфабриката» и «Филлорината», новизна технического решения подтверждена патентом РФ № 222663.

Вторая группа сырья. На примере обработки анфельции показано, что условия модификации заключаются в обработке 0,5 %-ной окисью кальция в сочетании с температурным воздействием в пределах 100–110 $^\circ\text{C}$. При этом происходит повышение в целевом продукте содержания агарозы до 80 % (рис. 13, а) и, как следствие, увеличение прочности геля в 2 раза по сравнению с прочностью агара (рис. 13, б).

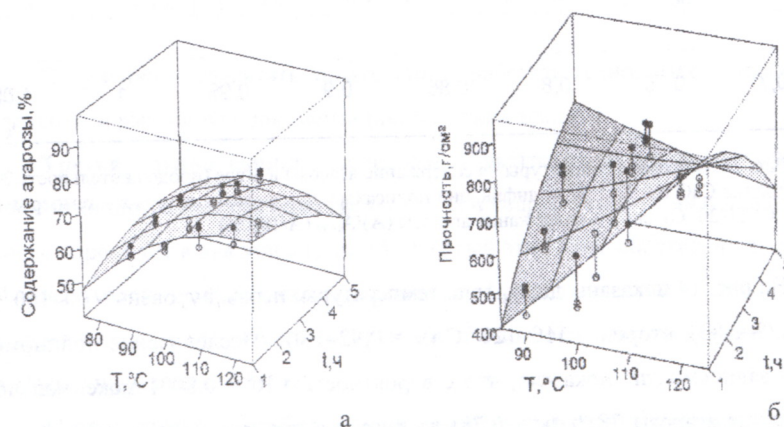


Рис. 13. Влияние температуры и продолжительности процесса на содержание (а) и прочность (б) агарозы (концентрация CaO 0,5 %) при модификации полисахарида в анфельции

Статистическая обработка экспериментальных данных показала, что в отличие от температуры продолжительность модификации не влияет на содержание агарозы в агаре.

Характер влияния температуры модификации полисахарида анфельции 0,5 %-ным СаО на содержание агарозы в агаре может быть представлен полиномиальной зависимостью (рис. 14).

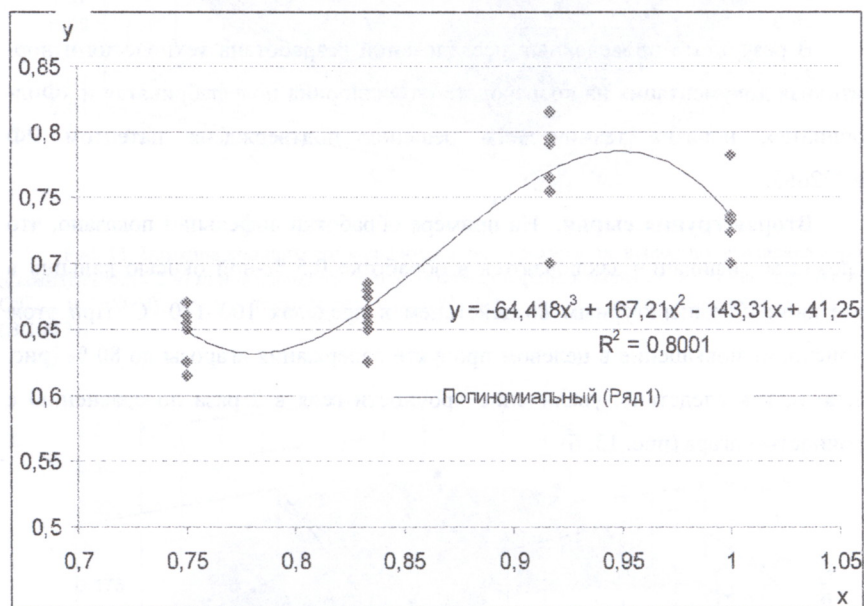


Рис. 14. Влияние температуры на содержание агарозы в агаре (продолжительность 2 ч, концентрация СаО 0,5 %) при модификации полисахарида в анфельции: ось x – температура t/t_{\max} ($100\text{ }^{\circ}\text{C}/120\text{ }^{\circ}\text{C}$), ось y – содержание агарозы $(A)/A_{\max}$ ($A/100\text{ }%$)

На рис. 14 показаны два уровня температуры: первый уровень – $90\text{--}100\text{ }^{\circ}\text{C}$ ($x = 0,75\text{--}0,83$), второй – $110\text{--}120\text{ }^{\circ}\text{C}$ ($x = 0,92\text{--}1,0$). Исследование полиномиальной зависимости показало, что с вероятностью $R^2 = 0,8001$ максимальное содержание агарозы $78\text{ }%$ ($y = 0,78$) достигается при переходе на второй уровень, в частности температуру $110\text{ }^{\circ}\text{C}$ ($x = 0,92$).

Исследования показали, что при последующем экстрагировании процесс модификации продолжается: это приводит к получению трех фракций, две из которых, судя по соотношению A/G, являются агарозами (табл. 5).

Таблица 5

Фракция агара	Моносахаридный состав фракций агара из <i>A. tobuchiensis</i>			Молярное отношение A / G
	2-O-Me-3,6-Ag, %*	3,6-Ag, %*	Gal, %*	
1	5,6	32,2	50,9	0,82 : 1,0
2	8,1	32,2	46,9	0,95 : 1,0
3	9,4	29,3	47,2	0,90 : 1,0

* Считая на ангидрозово.

По физико-химическим показателям первая фракция агара превосходит микробиологический сорт экстра и агар особой очистки, вторая и третья соответствуют коммерческим агарозам (табл. 6).

Таблица 6

Фракция агара	Выход, %	Содержание, %		Прочность, г/см ²	$t_{\text{заст.}}$, $^{\circ}\text{C}$	$t_{\text{плавл.}}$, $^{\circ}\text{C}$
		Минер. в-ва	Сульфаты			
1	7,2–7,5	0,7–0,8	0,5–0,6	600–700	35,5–38,0	92,0–93,0
2	2,7–2,9	0,4–0,5	0,3–0,4	900–1000	35,5–37,0	85,0–89,0
3	1,3–1,4	0,3–0,6	0,3–0,4	700–800	35,5–36,5	85,0–89,0

Полученные результаты позволили разработать технологию получения и утвердить нормативную документацию на 2 типа агарозы.

Третья группа сырья. Исследование экстрагирования каррагинана на примере хондруса при температуре $60\text{--}90\text{ }^{\circ}\text{C}$ и гидромодуле 1 : 40 показало, что процесс проходит в два этапа (рис. 15). Первый этап – это собственно экстрагирование, второй – диффузионное равновесие. Продолжительность первого этапа определяется температурой экстракции, продолжительность второго этапа – диффузионным равновесием.

Математическая обработка экспериментальных данных позволила установить зависимость скорости экстракции от параметров процесса по каждому

этапу: скорость экстракции каррагинана ($dc/d\tau$) на первом этапе определяется температурой процесса и, как установлено, может быть выражена уравнением (1) с достоверностью $P = 0,95$:

$$\frac{dc_1}{d\tau} = v_1 = 0,000038t^3 - 0,0094t^2 + 0,7702t - 0,202. \quad (1)$$

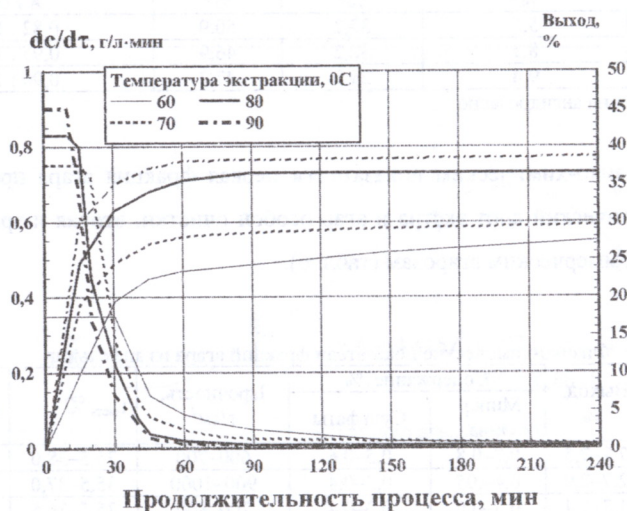


Рис. 15. Зависимость скорости экстрагирования каррагинана от продолжительности и температуры

На втором этапе скорость экстракции зависит от продолжительности процесса и может быть выражена уравнением (2):

$$\frac{dc_2}{d\tau} = v_2 = \frac{A}{t^a}, \quad (2)$$

где A, a – коэффициенты, зависящие от температуры экстракции.

С увеличением температуры усиливается влияние продолжительности на скорость экстракции. Скорость экстракции изменяется по экспоненте и приближается к равновесной. Это послужило основанием для установления продолжительности экстрагирования, которая составляет 60–150 мин в зависимо-

сти от температуры. При этом выход каррагинана изменяется от 27,6 до 38,8 % в зависимости от температуры.

Оптимальный температурный режим был выбран после хроматографического исследования каррагинанов. Температура экстракции 80–90 °C приводит к термической деструкции полисахарида и, как следствие, к увеличению его полидисперсности, о чем свидетельствует появление двух небольших дополнительных пиков на хроматограмме (рис. 16). Установлено, что при температуре 60–70 °C деструкции каррагинана практически не происходит, молекулярная масса составляет 2000 кДа.

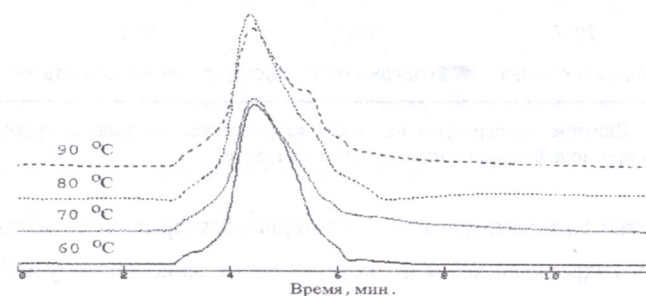


Рис. 16. Хроматограммы экстрактов каррагинана, полученных при разных температурах и продолжительности экстракции 4 ч

Несмотря на высокую молекулярную массу, исследование структуры каррагинана показало ее нерегулярность. Растворы обладают высокой вязкостью, но гели характеризуются невысокой прочностью. Поэтому для повышения структурообразующей способности каррагинана применяли модификацию.

Установлено, что обработка экстракта позволяет получить продукт с высоким выходом (40 %) и прочностью геля, превышающей в 5 раз прочность природного (рис. 17). Температура и продолжительность этого способа модификации не влияют на выход и прочность каррагинана. Таким образом, обоснованы рациональные условия модификации, которые состоят в следующем: температура модификации в пределах 20 °C – продолжительность 2 ч – концентрация гидроксида калия в растворе 2 %.

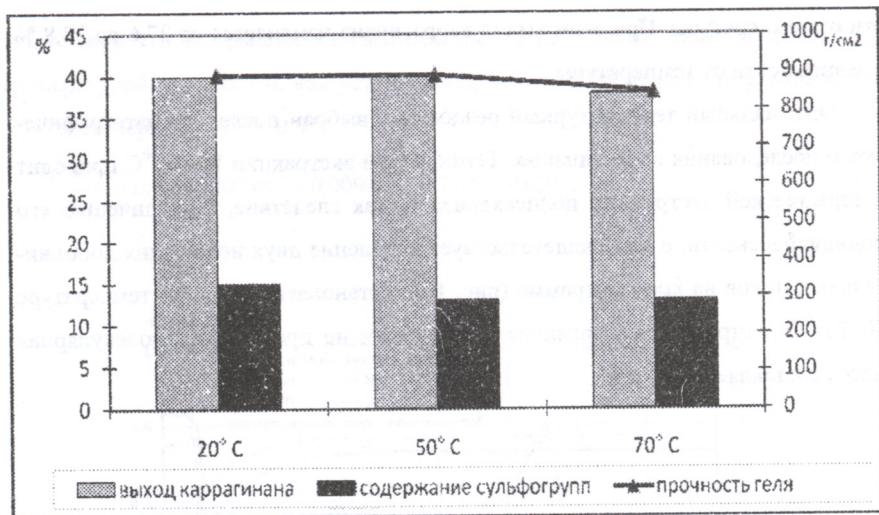


Рис. 17. Влияние температуры на выход каррагинана, содержание сульфогрупп и прочность геля при модификации полисахарида в экстракте

Сравнение физико-химических характеристик каррагинанов показало, что под влиянием гидроокиси калия происходит отщепление части сульфогрупп с образованием дополнительного количества 3,6-ангидроциклов (табл. 7).

Таблица 7

Физико-химическая характеристика модифицированного каррагинана					
Каррагинан	Содержание, %				Прочность геля 2,0 %-ного раствора, г/см ²
	G	3,6-A	SO ₃ Na	A/G	
Немодифицированный	30,5	18,6	15,3	0,72	135
Модифицированный в экстракте	25,1	24,9	12,0	0,99	1000

Дополнительное исследование каррагинанов ЯМР-спектроскопией показало отсутствие пика в спектре модифицированного каррагинана в области химического сдвига 104,8 м.д. (рис. 18), что означает существенное уменьшение количества сульфатированной галактозы.

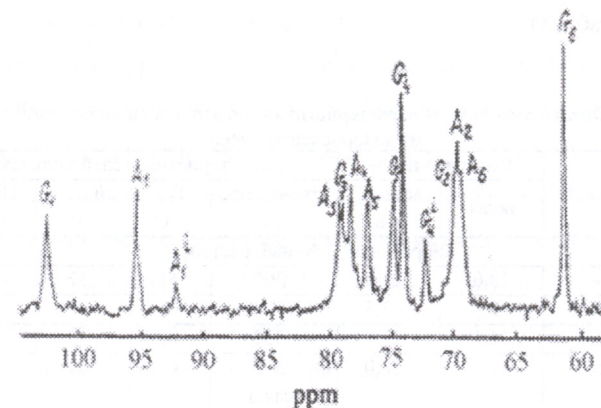


Рис. 18. Спектр ¹³C-ЯМР модифицированного каррагинана

Совокупность экспериментальных данных свидетельствует, что в результате модификации произошло повышение регулярности строения молекул каррагинана.

Анализ моносахаридного состава и содержание клетчатки природной смеси хондрус-анфельция с различным массовым соотношением водорослей (20 : 80; 30 : 70; 40 : 60), принадлежащих к разным группам сырья определили технологический подход к ее рациональной переработке: последовательное выделение разных по структуре полисахаридов, основанное на различной степени их растворимости.

Экспериментально показано, что в первую очередь необходимо проводить экстрагирование легкорастворимого каррагинана из водорослевой смеси, а затем агара. Новые условия экстрагирования каррагинана обеспечивают высокий выход продукта (табл. 8), но невысокие прочностные свойства.

Регулирование структуры осуществляли способом модификации в экстракте, как при получении каррагинана из чистого хондруса, что позволило нам

получить полисахарид с прочностью геля в 2 раза больше по сравнению с природным (табл. 8).

Таблица 8

Физико-химическая характеристика каррагинана, полученного из водорослевой смеси

№ п/п	Выход, %	Содержание, %		Характеристика гелей полисахаридов			
		воды	минер. в-в	Прочность, г/см ²	T _{пл.} , °C	T _{гел.} , °C	Цвет, % светопопуск.
Каррагинан (2 %-ный раствор)							
1	–	18,0	22,0	300	61	32	–
2	21,0	18,0	22,5	300	61	33	62
3	23,0	16,1	23,0	350	62	33	66
4	25,0	17,5	28,0	360 осажд.	62	33	67
Характеристика модифицированного каррагинана							
	25,0	17,7	22,0	600±100	70–73	33–34	80,0

Примечание. 1 – каррагинан пищевой, ТУ 8411-008-00472012-93; 2 – каррагинан из смеси X/A 20/80; 3 – то же, 30/70; 4 – то же, 40/60.

Последующее выделение агара из остатка сырьевой смеси дает возможность получить пищевой агар высокого качества, выход которого (7 %) аналогичен выходу полисахарида из чистой анфельдии.

Таким образом, включение в технологическую схему процесса модификации полисахаридов из смеси красных водорослей позволяет получить последовательно два разных по структуре и свойствам полисахарида – каррагинан и агар.

В результате разработки способов регулирования структуры полисахаридов на разных стадиях технологического процесса можно получать гелеобразователи с высокой регулярностью структуры и высокой прочностью гелей.

Глава 6. Регулирование реологических свойств гелей при создании пищевых систем

Гелеобразные пищевые системы

Установлено, что структура гелеобразных пищевых систем регулируется типом и соотношением полисахаридов, а также составом и количеством вкусо-

вых добавок. Показано влияние сахара, лимонной кислоты и цитрата калия на прочность системы в присутствии каррагинана.

Взаимодействие каррагинана с сахаром выражено сильнее по сравнению с традиционно используемым агаром (рис. 19). Содержание сахара в концентрации 50 % в системе с каррагинаном обеспечивает получение прочной системы, аналогичной такой же, как при содержании сахара 70 % в присутствии только агара.

При производстве жележных изделий типа мармелад обычно используют лимонную кислоту в количестве 0,7–1,1 % к массе продукта. Установлено, что добавление лимонной кислоты в концентрации 0,5–0,6 % снижает прочность системы каррагинан-сахар до 250 г/см² (рис. 20).

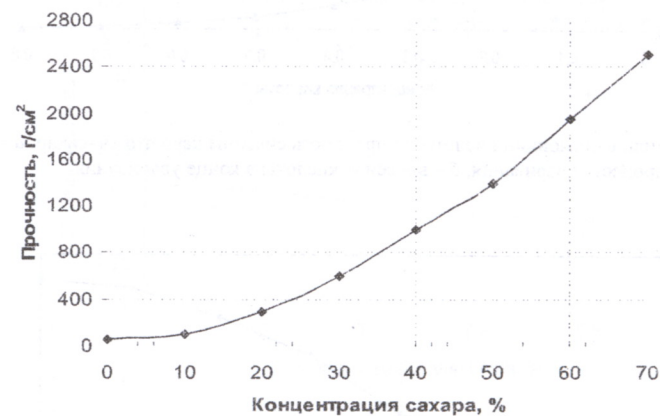


Рис. 19. Влияние сахара на прочность геля каррагинана

Для снижения степени деградации каррагинана в кислой среде применили в качестве добавки, стабилизирующей систему и ингибирующей действие лимонной кислоты, цитрат калия в концентрации от 0,1 до 0,7 %. Установили, что стабилизация пищевой системы каррагинан – сахар – лимонная кислота достигается внесением цитрата калия в количестве 0,5 % (рис. 21).

На основании проведенных исследований установлено соотношение компонентов, применяемых при создании гелеобразных пищевых систем: каррагинан – лимонная кислота – цитрат калия – соответственно 2 : 1 : 1. Стоит отме-

тить, что при обоснованных соотношениях компонентов каррагинан – пищевые добавки прочность системы находится в пределах 800 г/см^2 .

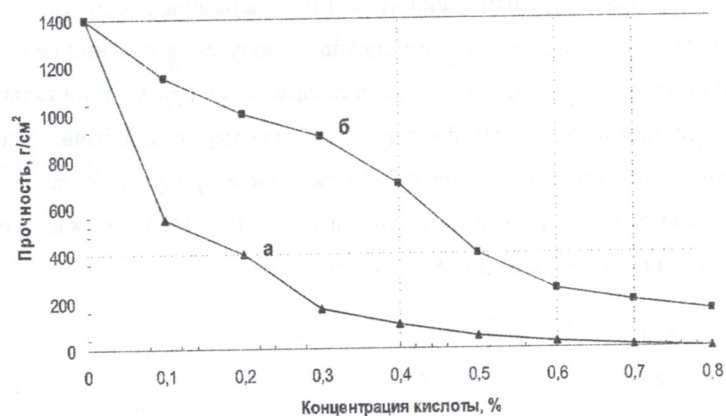


Рис. 20. Влияние лимонной кислоты на прочность системы каррагинан – сахар: а – внесение кислоты в процессе уваривания; б – внесение кислоты в конце уваривания

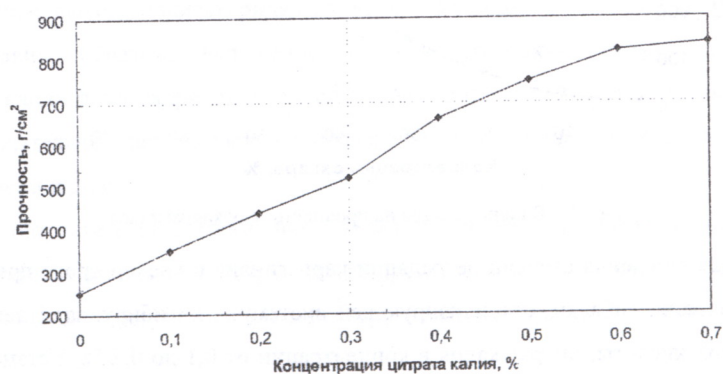


Рис. 21. Влияние цитрата калия на прочностные характеристики системы каррагинан – сахар – лимонная кислота

Таким образом, применение каррагинана позволяет получать желеобразные продукты с пониженным содержанием сахара и лимонной кислоты по

сравнению с традиционными. На основании этого разработаны рецептура и технологическая схема получения желеобразного продукта типа мармелад.

В желеобразных изделиях типа желе структура регулируется использованием каррагинана, который образует желаемую консистенцию только в присутствии ионезависимых полисахаридов. Экспериментально установлено, что структура желе с учетом вносимых добавок обеспечивается сочетанием низких концентраций двух полисахаридов – каррагинана и альгината. Введение альгината исключает хрупкость и придает смешанному желе нежную консистенцию. Установлено, что рациональная концентрация альгината – $0,4 \%$ (рис. 22).

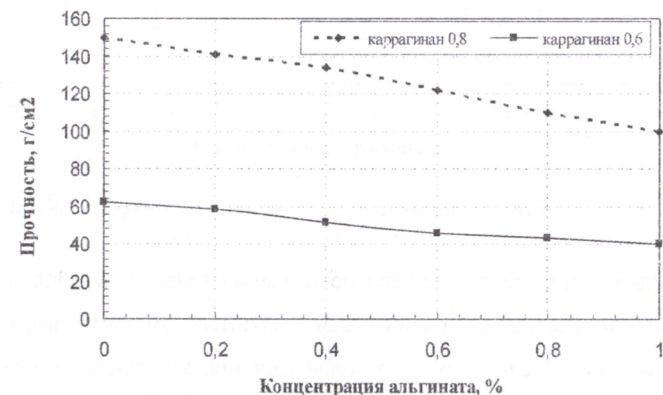


Рис. 22. Влияние концентрации альгината на прочность геля каррагинана

Следует отметить, что структурно-механические свойства желейной системы зависят в большей степени от концентрации ионезависимых полисахаридов и в меньшей степени от содержания пищевкусовых добавок (рис. 23).

На основании проведенных исследований разработаны рецептура и технология получения изделия «Фантазия», которые предполагают дополнительное использование фруктов и ягод. Органолептическая оценка показала, что приятным вкусом и нежной структурой обладает желе следующего состава: каррагинан – $0,6 \%$, альгинат – $0,4 \%$, сахар – $15,0 \%$, лимонная кислота – $0,3 \%$,

цитрат калия – 0,3 %; консервант (сорбиновая кислота) 0,05 % позволяет хранить желе при температуре от 0 до 5 °С до 3 мес.

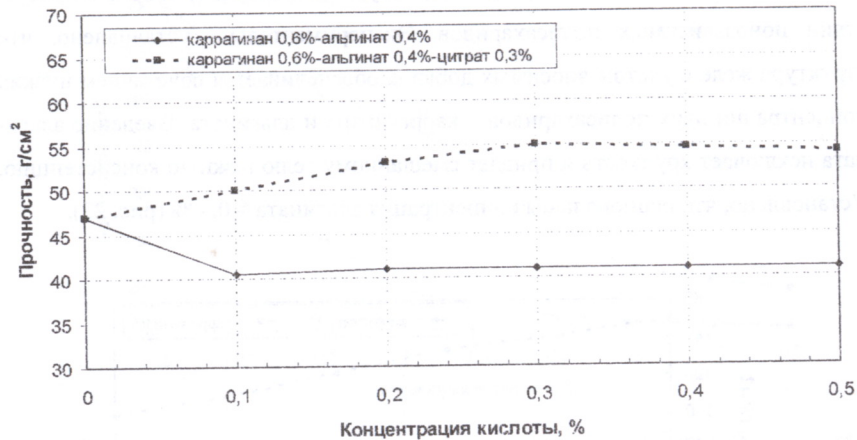


Рис. 23. Влияние кислоты на прочностные свойства системы каррагинан-альгинат

Исследования особенностей гелеобразования в системах с филлоринатом показали, что определяющими факторами являются концентрации полисахарида, органических кислот, сахара и солей кальция. Установлено, что филлоринат образует гели (280 г/см²) при соотношении компонентов в системе: филлоринат – 1,0 %, сахар – 50,0 %, хлорид кальция – 0,05–0,06 %, кислота – 0,5–0,8 %. Таким образом, установлено, что гелеобразование с филлоринатом аналогично таковому с альгинатом, что позволяет использовать этот полисахарид в смешанных системах с каррагинаном при создании систем типа желе, джема с низким содержанием сахара, а также систем, предназначенных для майонезов, салатов, диетических изделий.

Пищевые системы на основе рыбных фаршей

Для получения паштетообразного продукта со структурой типа суфле обоснованы концентрации и соотношение полисахаридов, обеспечивающие од-

нородность продукта и отсутствие синерезиса. Об этом свидетельствует увеличение водоудерживающей способности (ВУС) системы после стерилизации и, как следствие, предельного напряжения сдвига (ПНС) (рис. 24).

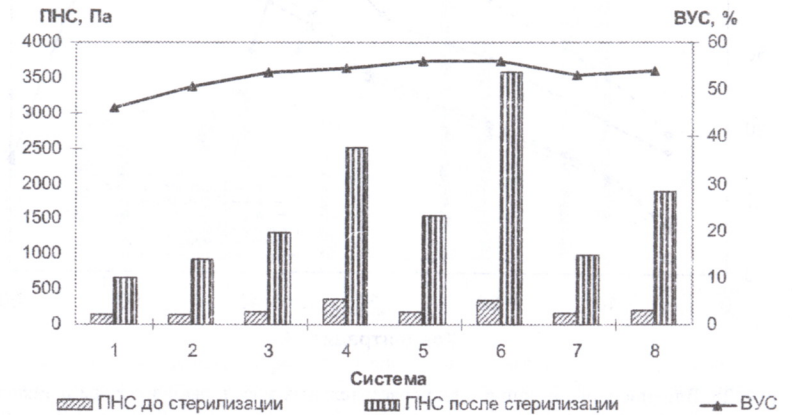


Рис. 24. Влияние стерилизации на ПНС и ВУС рыбных паст: 1 – рыбный фарш без добавления полисахаридов; 2 – с добавлением альгината (1,5 %); 3 – с добавлением альгината (2 %); 4 – с добавлением альгината (3 %); 5 – с добавлением каррагинана (0,5 %); 6 – с добавлением каррагинана (0,8 %); 7 – с добавлением альгината (1,0 %) и каррагинана (0,2 %); 8 – с добавлением альгината (1,5 %) и каррагинана (0,5 %)

Кроме того, применение модифицированных полисахаридов в технологии фаршевых изделий позволяет использовать фарш без предварительного бланширования. В результате разработаны рецептура и технологическая схема суфле из измельченной мышечной ткани рыб.

Эмульсионные пищевые системы

К эмульсионным пищевым системам относятся продукты, представляющие собой водно-липидные эмульсии. Нами было исследовано взаимное влияние различных видов полисахаридов, масел и пищевых добавок. Установлено, что стойкая эмульсия образуется при концентрации загустителя альгината 2 %, растительного масла – 50 ± 2 % (рис. 25).

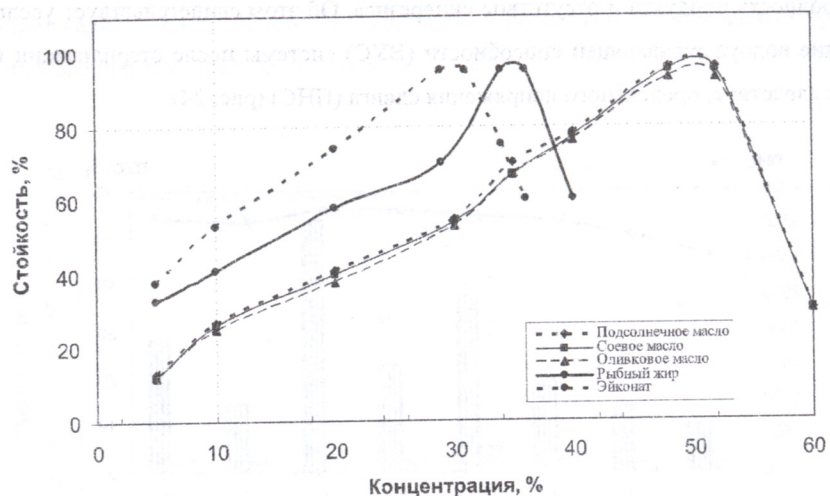


Рис. 25. Влияние концентрации и вида растительных масел, рыбного жира и эйконата на стойкость эмульсии

Повышение концентрации масла более 54 % ведет к мгновенному раслоению эмульсии сразу после получения, о чем свидетельствует резкое снижение показателя стойкости до 20 %. По сравнению с эмульсиями на растительных маслах, при которых эмульсии обладают наибольшей стойкостью, концентрации рыбного жира и эйконата ниже и составляют соответственно 34–36 и 29–31 %. При этом их вязкость существенно меньше.

При создании эмульсионной пищевой системы типа соус решали задачу получения низкокалорийного продукта (с содержанием жира менее 40 %), обладающего устойчивой структурой.

Как установлено, полисахариды водорослей в небольших концентрациях (0,2 % каррагинана и 1,0 % альгината) позволяют создавать стойкие эмульсии и получать продукт типа майонез с пониженным содержанием жирового компонента (рис. 26). Проведенные исследования дали возможность разработать рецептуру и технологию эмульсионного продукта типа соус.

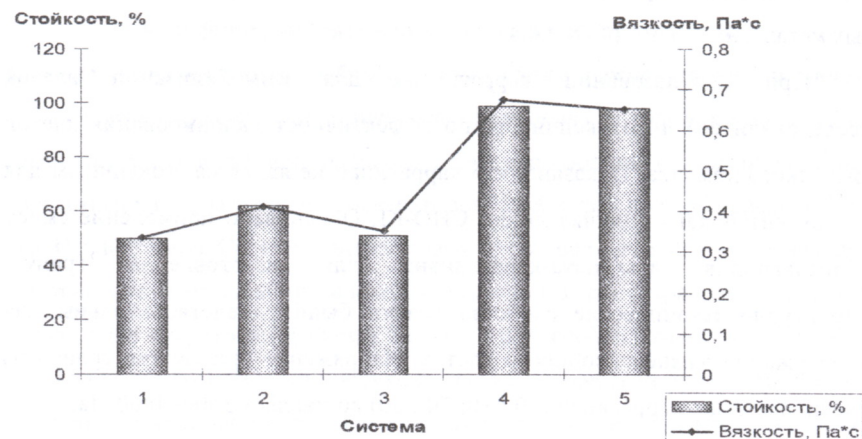


Рис. 26. Реологические характеристики эмульсионных систем при различной концентрации полисахаридов: 1 – альгинат (2 %), растительное масло (30 %); 2 – альгинат (1,5 %), каррагинан (0,2 %), растительное масло (30,0 %); 3 – альгинат (1,0 %), каррагинан (0,2 %), растительное масло (30,0 %); 4 – альгинат (1,5 %), каррагинан (0,2 %), растительное масло (30,0 %), молоко (1,0 %), уксусная кислота (0,09 %); 5 – альгинат (1,0 %), каррагинан (0,2 %), растительное масло (30,0 %), молоко (1,0 %), уксусная кислота (0,09 %)

Глава 7. Применение полисахаридов в биотехнологии

Приведены результаты биотестирования полисахаридов по следующим направлениям: 1 – исследование сорбционных свойств филлорина; 2 – исследование возможности применения полисахаридов при изготовлении диагностических и производственных питательных сред для селекции продуцентов антибиотиков, а также для иммобилизации клеток животных; 3 – изучение возможности использования агарозы для хроматографических исследований.

Показано, что филлорин проявляет максимальную сорбционную способность к Sr и Pb. Комплексообразование у филлорина происходит в течение 1 ч при соотношении металл : филлорин – 1 : 18–1 : 20, о чем свидетельствуют значения количества связанного стронция и свинца 1 г филлорина, которые составляют соответственно 394 и 952 мг. Это дает основание рекомендовать фил-

лорин в качестве противотоксического средства в отношении катионов тяжелых металлов.

При использовании каррагинана для иммобилизации клеток исследовали его цитотоксичность по эффективности клонирования клеток китайского хомячка. Показано, что каррагинан не является токсичным для клеток китайского хомячка линии СНО-К1. Обосновано применение смеси полисахаридов альгината-каррагинана для изготовления гранул. Структурно-механические свойства гранул были удовлетворительны для поддержания жизнеспособности клеток. Напряжение при сжатии гранул из смеси альгинат-каррагинан (90 : 10; 70 : 30) составляет 3600–4400 Па.

Исследования биотехнических показателей питательных сред на основе экспериментального высокоочищенного агара при использовании штаммов кишечной палочки, золотистого стафилококка, возбудителей дизентерии показали типичный рост и морфологию изолированных колоний, а также стабильность основных биологических свойств культур микроорганизмов.

Испытания образцов агарозы из *A. tobuchiensis* продемонстрировали целесообразность использования агарозы для селекции продуцента пенициллина и производства на ее основе питательных сред. Продуцент пенициллина хорошо формируется в спорообразующие колонии с типичной формой.

Агароза, полученная данным способом, была исследована в Институте органической химии им. Н.Д. Зелинского (ИОХ) РАН (г. Москва). Получено заключение о соответствии требованиям к агарозе для хроматографии и электрофореза и возможности использования в качестве полноценного заменителя импортных препаратов агарозы типа А-9793 фирмы "Sigma".

Глава 8. Практическая реализация технологий получения модифицированных полисахаридов и их применения

как структурообразующих добавок, оценка экономической целесообразности

Содержит расчеты экономической эффективности разработанных технологий в результате разработки бизнес-плана производства модифицированных полисахаридов из различных красных водорослей и трав применительно к ООО "КАЗ" г. Корсаков. Согласно бизнес-плану в течение 6 лет планируется внедрение технологий модифицированных полисахаридов при сохранении основного направления – производство агара пищевого и микробиологического. Приведены расчеты безубыточности продукции, запаса финансовой прочности, маржинальной прибыли производства модифицированных полисахаридов в условиях агарового завода. Установлено, что проект имеет низкий уровень риска, финансово устойчив при объемах продаж до 60 %, окупаемость – не более 4 лет.

Приведены результаты производственных проверок разработанных технологий: получение каррагинана и агара из смеси красных водорослей, филлорина и филлорината из морской травы филлоспадикса, высокоочищенного агара и агарозы из дальневосточной анфельции. Подтверждена возможность их использования для производства пищевых продуктов гелеобразного и эмульсионного типа, а также в биотехнологии и микробиологии. Выпущены опытные партии полисахаридов и пищевых продуктов на предприятиях, занимающихся переработкой водорослей и изготовлением пищевых продуктов: ООО «КАЗ» г. Корсаков, ОАО «Амарант-плюс» г. Владивосток, ООО «Агар-агар» г. Владивосток, ИП Амоев Т.М. г. Владивосток; на экспериментальном технологическом производстве ФГУП «ТИНРО-Центр» выпущены опытные партии консервов «Суфле лососевое», изделия типа мармелада «Мозаика», желейного изделия «Фантазия».

По результатам научных исследований и производственных проверок разработана общая схема технологического процесса получения полисахаридов как пищевых структурообразующих добавок (рис. 28).

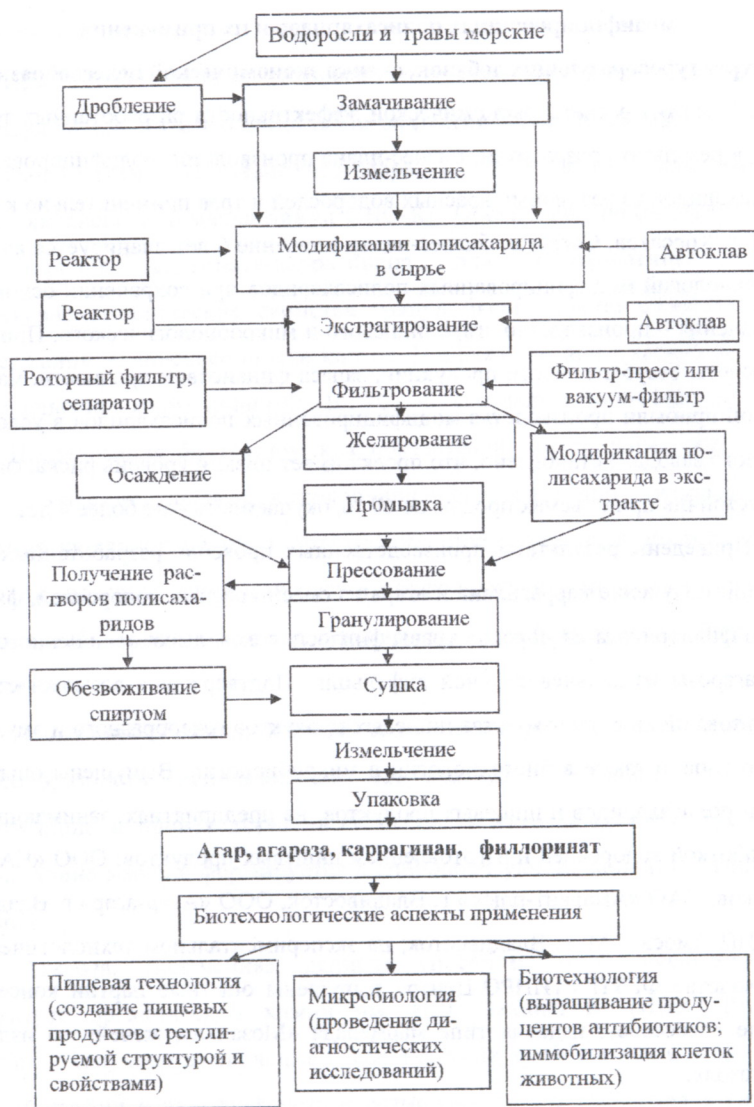


Рис. 28. Технологическая схема получения модифицированных полисахаридов на унифицированной линии по переработке водорослей и трав

Выводы

1. Обоснована и разработана научная концепция создания технологий полисахаридов из красных водорослей и морских трав с регулярной структурой и заданными функциональными свойствами, базирующаяся на дифференцированном подходе к их направленной модификации в зависимости от особенностей химического состава морского растительного сырья.

2. Разработана классификация морских растений по химическому составу, выделены три классификационные группы сырья в зависимости от содержания клетчатки (К), галактозы (G) и 3,6-ангидрогалактозы (А) (в %):

1-я группа — $K > 15$, $G < 1$, $A = 0$;

2-я группа — $10 < K < 15$, $10 < G < 20$, $A < 10$;

3-я группа — $K < 10$, $G > 20$, $A > 10$, — и предложены методологические основы технологий полисахаридов с регулярной структурой и высокими структурообразующими свойствами.

3. Нерегулярность структуры природных полисахаридов красных водорослей и морских трав вследствие высокого содержания сульфатных или метильных групп, а также неравномерного распределения 3,6-ангидрогалактозы вдоль полимерных цепей обуславливает их низкие структурно-механические свойства.

4. Регулярность структуры полисахаридов красных водорослей и морских трав различных классификационных групп обеспечивается их направленной модификацией, основанной на изменении соотношений 3,6-ангидрогалактозы и галактозы, сульфатных и метильных групп в их полимерной цепи.

5. Оптимальными параметрами процесса физико-химической модификации являются для разных групп морского растительного сырья:

— 1-й группы (пектинсодержащих) — концентрация соляной кислоты — 1 %, температура — 85 ± 5 °С, продолжительность — 2 ч, выход филлорината — 12,8 %, максимальная молекулярная масса филлорината-гелеобразователя — 22,4 кДа при температуре 55 ± 5 °С;

— 2-й группы (агарофитов) — концентрация окиси кальция — 0,5 %, температура — 110 ± 5 °С, продолжительность — 2 ч, максимальное содержание агарозы — 77 ± 3 %;

— 3-й группы (каррагинофитов) — концентрация экстрагента — $2,0 \pm 0,5$ %, температура — 20 ± 2 °С, продолжительность — $1,5 \pm 0,5$ ч, выход каррагинана — $40,0 \pm 2,0$ %, прочность — 900 ± 50 г/см².

6. Разработана технология переработки смеси красных водорослей *C. armatus/A. tobuchiensis*, предусматривающая в одном технологическом цикле фракционное извлечение разных по химической структуре и физическим свойствам полисахаридов — каррагинана и агара.

7. Разработана технология получения из *A. tobuchiensis* агара и агарозы в одном технологическом цикле, основанная на модификации структуры нейтрального полисахарида в результате отщепления отрицательно заряженных сульфатных групп, удалении низкомолекулярных фракций агара и последовательном фракционировании полисахаридов непосредственно из водоросли. Технология обеспечивает увеличение фракции агарозы до 80 %.

8. Научно обоснована и разработана технология пектина низкой степени этерификации (35–40 %) из морской травы *P. iwatensis*. Регулирование структуры и свойств кислого полисахарида обеспечивается снижением метоксильных групп до 3,6 %, ацетильных групп — до 0,1 % и увеличением числа свободных карбоксильных групп — до 9,8 % в результате кислотного деметоксилирования.

9. Разработаны принципы и условия применения модифицированных полисахаридов с регулярной структурой и заданными структурно-механическими свойствами, являющихся основой при получении хроматографических и диагностических препаратов, питательных сред и матриц в микробиологических и биотехнологических исследованиях.

10. Разработаны технологии структурированных пищевых продуктов с реологическими свойствами, определяемыми модифицированными полисахаридами:

— **гелеобразных** типа мармелад на основе каррагинана и желе с нежной консистенцией на основе смеси каррагинан-альгинат (или пектин) с пониженным содержанием сахара и лимонной кислоты;

— **паштетообразных** — рыбное суфле на основе смеси каррагинан-альгинат (или пектин) без предварительного бланширования фарша с отсутствием синерезиса;

— **эмульсионных** типа соусов на основе смеси каррагинан-альгинат (или пектин) с пониженным содержанием липидного компонента.

11. Разработаны и утверждены нормативные документы на получение полисахаридов и пищевых продуктов на их основе, исходные требования на проектирование унифицированной линии по получению полисахаридов и бизнес-план внедрения комплекса технологий модифицированных полисахаридов из дальневосточных красных водорослей и морских трав на ООО "КАЗ" г. Корсаков.

12. Расчет экономической эффективности показал, что внедрение комплекса технологий в соответствие с бизнес-планом по производству полисахаридов из дальневосточных видов красных водорослей и морских трав на ООО "КАЗ" г. Корсаков имеет низкий уровень риска, финансовую устойчивость при объемах продаж до 60 %. Рентабельность проекта составляет 28 %, срок окупаемости — не более 4 лет.

Основные работы, опубликованные по теме диссертации:

Монографии:

1. **Кадникова И.А.** Способы получения гелеобразующих полисахаридов : глава в кн. «Промысловые водоросли и травы морей Дальнего Востока: биология, распространение, запасы, технология переработки» / М.В. Суховеева, А.В. Подкорытова. Владивосток: ТИПРО-центр, 2006. С. 153–170.

2. **Подкорытова А.В., Кадникова И.А.** Морские гидроколлоиды : Руководство по методам исследований морских водорослей и трав и продуктов их переработки. Научно-технические и методические документы. М.: ВНИРО. 2009. 108 с.

Список опубликованных статей в журналах ВАКа по теме диссертации:

3. Подкорытова А.В., **Кадникова И.А.**, Усов А.И. Красная водоросль *Chondrus armatus* (Harv.) Okam. (Gigartinales), ее химический состав, содержание каррагинана // **Растительные ресурсы**. 1994. Вып. 1–2. С. 79–85.
4. **Кадникова И.А.**, Подкорытова А.В. Химическая модификация каррагинана красной водоросли *Chondrus armatus* // **Изв. ТИНРО**. 1995. Т. 118. С. 111–116.
5. Подкорытова А.В., Кушева О.А., **Кадникова И.А.** Технология гелеобразующих полисахаридов из смеси дальневосточных красных водорослей // **Изв. ТИНРО**. 1997. Т. 120. С. 229–232.
6. **Кадникова И.А.**, Подкорытова А.В. Экстрагирование, концентрирование и очистка гелей каррагинана в технологии получения из дальневосточной красной водоросли *Chondrus armatus* // **Изв. ТИНРО**. 1997. Т. 120. С. 174–179.
7. Подкорытова А.В., Блинов Ю.Г., **Кадникова И.А.** и др. Высокоочищенный агар из *Ahnfeltia tobuchiensis* и его микробиологическое тестирование // **Изв. ТИНРО**. 1999. Т. 125. С. 287–292.
8. Суховерхов С.В., Усов А.И., Подкорытова А.В., **Кадникова И.А.** Хроматографическое исследование агаровых экстрактов из красной водоросли *Ahnfeltia tobuchiensis* // **Биоорганическая химия**. 1999. Т. 25, № 3. С. 211–215.
9. Суховерхов С.В., **Кадникова И.А.**, Кушева О.А., Подкорытова А.В. Обоснование технологии получения агарозы из красной водоросли *Ahnfeltia tobuchiensis* // **Изв. ТИНРО**. 1999. Т. 125. С. 282–286.
10. Суховерхов С.В., **Кадникова И.А.**, Подкорытова А.В. Получение агара и агарозы из красной водоросли *Ahnfeltia tobuchiensis* // **Прикладная биохимия и микробиология**. 2000. Т. 36, № 2. С. 238–240.
11. Кушева О.А., **Кадникова И.А.**, Подкорытова А.В., Шапошникова Т.В. Химический состав морской травы *Phyllospadix iwatensis* Makino (Zosteraceae) и свойства ее полисахарида // **Изв. ТИНРО**. 2001. Т. 129. С. 9–13.
12. Талабаева С.В., **Кадникова И.А.**, Соколова В.М., Подкорытова А.В. Исследование физико-химических свойств экстрактов каррагинана из красной водоросли *Chondrus armatus* // **Изв. ТИНРО**. 2001. Т. 129. С. 227–231.
13. **Кадникова И.А.**, Подкорытова А.В., Суховерхов С.В. и др. Исследование технологических свойств красной водоросли *Gelidium amansii*, произрастающей вдоль побережья республики Корея, и агара // **Изв. ТИНРО**. 2001. Т. 129. С. 261–267.
14. **Кадникова И.А.**, Кушева О.А. Обоснование технологии получения пектина низкой степени этерификации из морской травы *Phyllospadix iwatensis* // **Хранение и переработка сельхозсырья**. 2004. № 10. С. 29–31.
15. Аминина Н.М., **Кадникова И.А.** Перспективы использования водорослей и трав дальневосточных морей в пищевой промышленности // **Вопросы рыболовства**. 2005. Т. 6, № 2(22). С. 405–412.
16. **Кадникова И.А.**, Талабаева С.В. Пищевые эмульсии, стабилизированные полисахаридами водорослей // **Масложировая промышленность**. 2006. № 3. С. 40–41.
17. **Кадникова И.А.**, Талабаева С.В., Соколова В.М. Влияние полисахаридных гидрогелей на реологические свойства консервов типа суфле // **Изв. ТИНРО**. 2006. Т. 146. С. 283–287.
18. Талабаева С.В., **Кадникова И.А.**, Соколова В.М. Исследование параметров экстрагирования каррагинана в технологии получения каррагинанового гидрогеля // **Биотехнология**. 2007. № 1. С. 75–80.
19. **Кадникова И.А.** Технохимическая характеристика морского растительного сырья для производства гелеобразующих полисахаридов // **Изв. ТИНРО**. 2008. Т. 155. С. 292–297.

Список статей в других изданиях:

20. **Кадникова И.А.**, Талабаева С.В., Подкорытова А.В. Технология продуктов с использованием каррагинана и его гидрогеля из хондруса // **Рыбная промышленность**. 2005. № 1. С. 34–36.
 21. **Кадникова И.А.**, Кушева О.А., Соколова В.М. Производство и применение агара и агарозы из дальневосточной анфельции // **Пищевые ингредиенты. Сырье и добавки**. 2004. № 2. С. 82–84.
 22. **Кадникова И.А.**, Талабаева С.В. Каррагинан в пищевой промышленности // **Рыбная промышленность**. 2005. № 2. С. 20–21.
 23. Podkorytova A.V., Blinov Yu.G., **Kadnikova I.A.** et al. High purified agar made from *Ahnfeltia tobuchiensis* and its microbiological testing // **Bulletin of Fisheries Research and Development Institute**. Republic of Korea, 1998. № 54. P. 1–5.
 24. Sukhovkhorov S.V., Usov A.I., Podkorytova A.V., **Kadnikova I.A.** A Chromatographic Study of agar Extracts from the Red Algae *Ahnfeltia tobuchiensis* // **Russian Journal of Bioorganic Chemistry**. 1999. Vol. 25, № 3. P. 211–215.
 25. Yoon H.D., Sukhovkhorov S.V., Podkorytova A.V., **Kadnikova I.A.** A Chromatographic study of pretreatment and extraction condition on agar quality from red algae, *Gelidium amansii* (*Gelidium elegans*) Kütz // **Bulletin of Fisheries Research and Development Institute**. Republic of Korea, 2001. № 59. P. 166–170.
 26. **Kadnikova I.A.**, Usov A.I., Smirnova G.P. et al. Composition and properties isolated from *Phyllospadix iwatensis* Makino (Zosteraceae, Monocotyledoneae) // **The Japanese Journal of Phycology**. 2004. Vol. 52. P. 83–86.
 27. Подкорытова А.В., **Кадникова И.А.**, Талабаева С.В. Гелеобразующие полисахариды красных водорослей: состав, свойства, применение каррагинана // **Изв. КГТУ**. 2005. № 7. С. 77–81.
- Материалы конференций и симпозиумов:**
28. Суховерхов С.В., **Кадникова И.А.**, Подкорытова А.В. Разработка технологии получения высокоочищенного агара и агарозы // **Материалы докл. Второго междунар. симпозиума «Ресурсосберегающие технологии в аквакультуре»**. Адлер, 1999. С. 246–247.
 29. Гурулева О.А., Талабаева С.В., **Кадникова И.А.** Изучение реологических свойств и процесса синергизма гидрогеля каррагинана, полученного из красной водоросли *Chondrus armatus* // Сб. докл. III Междунар. конф. «Наука–Техника–Технологии на рубеже третьего тысячелетия». Находка, 2002. С. 64–67.
 30. **Кадникова И.А.** Морские травы дальневосточных морей – перспективный источник полисахаридов пектиновой природы // **Приморье – край рыбацкий : материалы науч.-практ. конф.** Владивосток, 2002. С. 85–88.
 31. **Кадникова И.А.** Современный уровень развития производства агара и агарозы на Дальнем Востоке // **Материалы IV Междунар. науч.-практ. конф. «Производство рыбных продуктов: проблемы, новые технологии, качество»**. Калининград, 2003. С. 148–152.
 32. Подкорытова А.В., **Кадникова И.А.**, Соколова В.М. Пищевые добавки из водорослей и их влияние на качество продуктов // **Материалы IV Междунар. науч.-практ. конф. «Производство рыбных продуктов: проблемы, новые технологии, качество»**. Калининград, 2003. С. 224–229.
 33. Суховерхов С.В., **Кадникова И.А.**, Кушева О.А., Подкорытова А.В. Способ получения агарозы из *Ahnfeltia tobuchiensis* // Сб. материалов IV Междунар. науч.-практ. конф. «Наука–Техника–Технологии». Находка, 2003. С. 110–114.
 34. Аминина Н.М., **Кадникова И.А.**, Соколова В.М., Талабаева С.В. Полисахариды водорослей в технологии продуктов функционального питания // Сб. материалов II Междунар. симпозиума «Пищевые биотехнологии: проблемы и перспективы в XXI веке». Владивосток, 2004. С. 74–77.

35. **Кадникова И.А.**, Талабаева С.В. Влияние хлорида и цитрата калия на физико-химические свойства гелей каррагинана из *Chondrus armatus* // Материалы Второй междунар. науч.-практ. конф. «Морские прибрежные экосистемы: водоросли, беспозвоночные и продукты их переработки. Архангельск, 2005. С. 294–297.

36. Талабаева С.В., **Кадникова И.А.**, Соколова В.М., Подкорытова А.В. Влияние полисахаридов водорослей и липидов на реологические свойства и стойкость пищевых эмульсий // Материалы Междунар. науч.-практ. конф. «Повышение эффективности использования водных биологических ресурсов Мирового океана». М.: ВНИРО, 2005. С. 216–217.

37. Талабаева С.В., **Кадникова И.А.** Гелеобразующая способность смешанных гелей на основе каррагинана и альгината // Материалы конф. Владивосток: ТГЭУ, 2005.

Патенты:

38. Подкорытова А.В., **Кадникова И.А.**, Кушева О.А. и др. Способ переработки красных водорослей : Пат. РФ № 2113131 на изобретение, приоритет от 06.07.95. Зарегистрирован в Гос. реестре 20.06.98.

39. Подкорытова А.В., Кушева О.А., **Кадникова И.А.**, Соколова В.М. Способ получения студнеобразователей из смеси морских красных водорослей : Пат. РФ № 2109461 на изобретение, приоритет от 04.10.96. Зарегистрирован в Гос. реестре 27.04.98.

40. Подкорытова А.В., **Кадникова И.А.**, Кушева О.А., Суховерхов С.В. Способ получения высокоочищенного агара и агарозы из красной водоросли анфельдии тобучинской : Пат. РФ № 2189990, 05.04.2001.

41. Аминина Н.М., **Кадникова И.А.**, Кушева О.А. Способ переработки морской травы с получением полисахаридов пектиновой природы : Пат. № 2223663. Зарегистрирован в Гос. реестре изобр. РФ 20.02.2004. Бюл. № 5.

Подписано в печать 10.09.2009 г. Формат 60x84/16. 2 уч.-изд. л.

Тираж 100 экз. Заказ № 20.

Отпечатано в типографии издательского центра ФГУП «ТИНРО-Центр»

г. Владивосток, ул. Западная, 10.