

Векишин Н.Л.

Биофизика экологически-чистой мясопереработки



*Как и из чего делают
колбасу*

Векшин Н.Л.

**Биофизика
экологически-чистой
мясопереработки**

Как и из чего делают колбасу

**ООО «Фотон век»
Пушино**

Векшин Н.Л. Биофизика экологически-чистой мясопереработки. Как и из чего делают колбасу – ООО «Фотон век», Пушкино, 2013, 112 с.

В монографии доктора биологических наук, ведущего научного сотрудника Института биофизики клетки РАН Векшина Н.Л. изложены биофизические основы современной биотехнологии мясопереработки. Приводятся сведения по физико-химическим процессам, происходящим при хранении и переработке мяса, в частности – при изготовлении колбасных изделий. Обсуждаются достоинства и недостатки способов обработки и пищевых добавок. Предложена экологически чистая технология безнитритной мясопереработки, а также ряд инструментальных методов контроля качества. Книга предназначена для специалистов-биотехнологов мясоперерабатывающей промышленности, а также может быть полезна для студентов-биотехнологов.

ООО «Фотон век»,
г.Пушино, Московская область
тел. (4967) 73-94-32
beornot@rambler.ru

Подписано в печать 08.04.2013.
Формат 60 х 90 / 8.
Тираж 500 экз.

Содержание	Стр.
Предисловие	4
Биохимические процессы в мясном фарше	9
Перекисное окисление липидов	10
История традиционной мясопереработки	15
Традиционные способы консервации мяса и фарша	16
Различные виды колбас	18
Сосиски и сардельки	22
Процесс колбасного производства	23
Холодная импульсная СВЧ стерилизация мясопродуктов	24
Пищевые добавки	26
Рынок пищевых добавок	31
Нитриты, их полезные и вредные свойства	33
Международные стандарты на пищевые добавки	34
Опасность некоторых пищевых добавок	39
Использование кармина для окраски мясных изделий	40
Низин и бизин	42
Изобретения и патенты по обработке мяса	44
Современные пищевые <u>биодобавки</u>	49
Путь к безнитритной технологии	50
Разработка комплексных пищевых <u>биодобавок</u> (КПБД)	52
Лабораторное испытание двух КПБД	55
Эффективность комплексных пищевых биодобавок	56
Технология безнитритной мясопереработки	60
Испытание КПБД и новой технологии на производстве	62
Методы контроля качества фарша на мясокомбинатах	67
Органолептический метод исследования	68
Гистологический метод исследования	69
Оптические методы исследования	71
Биофизические методы оценки сохранности фарша	72
Что лучше: имидазол, гистидин или фосфат?	77
NADH-дегидрогеназные тесты сохранности мяса	80
NADH:феррицианид-редуктазная активность гомогената	84
Потеря флавина как тест на сохранность	85
Определение ПОЛ в говядине по МДА	90
Является ли аскорбиновая кислота антиоксидантом?	93
Итоги по разработке технологии, КПБД и методов	97
Принципиальные отличия новой технологии	103
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	109

Колбаса и политика: если хотите наслаждаться ими, не смотрите, как они делаются. (Бисмарк)

Предисловие

(из истории разработки безнитритной технологии)

Кислород – главный агент, приводящий к порче мясопродуктов. При обработке мясопродуктов часто используют вакуумирование. Но эта процедура не позволяет удалить кислород из мышечных клеток, где его много в цитоплазме, мембранах, гемоглобине кровеносных сосудов и особенно в – мышечном миоглобине.

Восемь лет назад мне пришла в голову идея: значит, нужно обработать мясо или фарш веществами, стимулирующими митохондриальное дыхание. Тогда можно будет обойтись без нитритов и прочих химических консервантов. Я написал краткий научный проект по получению безнитритной колбасы и отправил его в адрес ряда московских мясокомбинатов. Ноль реакции. Как я потом понял, производителям колбас наплевать на здоровье потребителей. Им главное, чтобы колбаса не протухала и имела товарный вид. А для этого вполне достаточно нитритов, фосфатов и прочей химии.

Узнав о мясном проекте, мой аспирант Иван Савинцев предложил: «У меня дядя работает на мясокомбинате. Давайте попробуем через него». Вскоре к нам приехал директор мясокомбината. Мы подписали договор на 300 тысяч рублей, получили авансом половину суммы и приступили к работе. За полгода в лаборатории наладили биофизические методы контроля качества фарша, а также, добившись безкислородных условий в мышечных клетках и подобрав оптимальный состав веществ, предложили первую безнитритную технологию получения колбасного фарша.

Директор получил от нас подробный отчет и рецептуру. Он провел у себя испытания и убедился, что действительно можно делать такую колбасу, причем, срок ее хранения увеличился. Мы попросили заплатить нам вторую половину суммы. И тут директор заявил, что сначала хотел бы провести более тщательные испытания. Мы ждали месяц, другой... Прошло полгода, год... Мы неоднократно обращались к директору. Он говорил, что дело движется и что всем этим занимается главный технолог. А главный технолог то был в отпуске, то на бюллетене, то занят другими делами. Короче говоря, нас кинули. Хотя нельзя исключить, что не по злому умыслу кинули, а лишь по безалаберности: увязли в трясине производственной рутины.

Как-то раз в Москве состоялся форум "Мясные технологии". Там мой доклад о безнитритной колбасе был признан лучшим. Меня завалили призами и вопросами. Но на этом все и кончилось.

На этом форуме деловые люди напористо рекламировали свою полусинтетическую продукцию. Как говорится, хорошая реклама в хорошем то-

варе не нуждается. Главная цель мясопереработки - получить из сырья как можно больше продуктов, например, из 1 кг мяса – 2 кг колбасы. Помимо сала, сои, маргарина, воды и прочего, в состав колбасы и сосисок входит всякая химическая всячина, включая разнообразные консерванты, красители, стабилизаторы, эмульгаторы и т.п.

Я спросил одного из выступающих: «Нитриты и химические консерванты опасны для здоровья. Как быть?» На это был дан такой ответ: «Но никакого вреда они не наносят, ведь никто от колбасы не умирает». Потрясающий аргумент. Я заметил: «Да, сразу никто не умирает, но умирают потом, со временем. Даже очень низкая концентрация или очень слабое воздействие могут вызвать в организме человека огромные последствия». Докладчик ухмыльнулся: «Да где ж вы это видели, чтобы мизерное действие приводило к заметным последствиям? Приведите пример». Я привел наглядный пример: «Когда сперматозоид проникает в яйцеклетку, это будет (по Вашему) мизерное воздействие, а через 9 месяцев рождается ребенок; это последствия». Публика засмеялась. Докладчик пожал плечами.

Я подал заявку в РФФИ и вскоре получил финансирование в рамках гранта РФФИ-офи. Через год были получены очень важные результаты по биологическим механизмам защиты фарша и мяса от порчи.

Я подал заявку по безнитритной технологии в фонд Бортника. И вскоре получил извещение, что проект отобран в числе лучших. Меня вызвали на заседание совета. Стояла летняя жара. Члены совета парились в пиджаках, утирали липкий пот и пили минералку. Некоторые из них стали задавать мне вопросы, но как-то вяло, без интереса. Беседа длилась всего пять минут. Я был этим удивлен. Когда вышел оттуда, за мной в коридор последовал один из членов комиссии: "Вы зря сделали акцент на научной стороне вопроса. Надо было больше говорить о внедрении и возможной прибыли. Не знаю, какое решение будет принято, но я, к сожалению, ничем помочь не могу, не имею возможности". Проект отклонили.

На следующий год проект вновь был отобран фондом Бортника, но вновь после заседания отклонён. О причинах говорить не буду, ибо слово «откат» мне не знакомо...

В следующем году, когда работа по биофизическим основам экологически чистой безнитритной мясопереработки победила на «Конкурсе русских инноваций», тот же самый фонд дал-таки финансирование. Однако не сразу. В течение трех месяцев некоторые работники фонда «тянули резину» и пытались срезать бюджет гранта, уменьшив сумму втрое. И только после вмешательства журналистов и лично Бортника вопрос был решен, как положено.

На выставке «Биотехнология» один менеджер ООО «Республика Идей», заинтересовавшись изобретением, уговорил меня подписать договор о поиске инвестора. Условия были довольно скользкие, но я пошел на подписание, так как менеджер заверил, что это просто такая форма договора, а реально все будет *окей*. По его указанию я отправил его помощнику все ма-

териалы. Помощник обещал устроить встречу с инвестором в ближайшие дни. «Ближайшие дни» всё шли и шли... Потом помощник перестал мне отвечать, пропал в никуда. Я обратился к менеджеру. Он сообщил, что с помощником больше дел иметь не нужно (он уволен) и что мне вскорости позвонят другие помощники. Прошло три месяца. Никто не позвонил. Я вновь обратился к менеджеру. Он ответил, что этим делом занимается новый человек. Я обратился к указанной персоне. Тот заявил, что первый раз обо всем этом слышит. Я попросил его выяснить у менеджера, какова реальная ситуация. Ни ответа ни привета. Тогда я написал письмо директору «Республики Идей», который подписывал договор. Мне хотелось понять: произошло недоразумение или это был некий способ "отфутболить" изобретателя. Ответа от директора я не получил. Но зато получил странные послания от менеджера и некой новой персоны. Первый из них разъяснял, что каждый сотрудник сам решает браться или не браться за проект и не несет ответственности за заключенный договор. Второй сообщал, что берется-таки за мой проект и попросил снова прислать все материалы. Я отправил. Прошло много времени, и он проинформировал меня, что заниматься проектом не будет, ибо уволился.

Впоследствии я понял, что таков уж стиль «сотрудничества» многочисленных околонаучных стервятников, занимающихся халявным сбором научной и инновационной информации. Например, в ООО «Частный капитал», узнав о моем изобретении, посулили инвестиции в размере миллион долларов. Наивно поверив заверениям, я потратил массу времени и передал им кучу информации. В итоге через полгода – ничего.

Безнитритная технология стала призером конкурса «Бизнес инноваций», заняла 2-е место в финале и должна была получить приз в размере 5000 долларов. Однако после конкурса его устроители проинформировали меня, что для перевода денег нужно оформить договор о передачи им этой разработки. Вот это финт! Оказывается, тут вовсе не приз, а покупка ценного изобретения «за копейки». Вопрос о договоре муссировался полгода, но, в конце концов, мне все же выплатили половину суммы.

О моем изобретении рассказали по телевидению и написали в газетах. Поэтому не было отбоя от менеджеров, посредников и директоров мясокомбинатов. Сначала я добросовестно им отвечал, всё объяснял и приезжал на встречи. А потом понял, что все их письма, звонки и беседы сводятся к одному: получить информацию, ничего не заплатив. Никто не хотел подписывать реальный договор или хотя бы протокол о намерениях. Уж таков, видно, менталитет российских бизнесменов.

«Да зачем Вам какие-то договора?! Приезжайте с Вашими веществами. Мы их тут в фарш добавим. А там посмотрим. Зачем делить шкуру неубитого медведя?», - в таком ключе высказались несколько директоров, в том числе – зам.директора крупнейшего московского мясокомбината, носящего легендарное армянское название... Меня не устраивало «а там посмотрим». Я уже знал, что это означает. Я ответил, что "шкуру медведя" надо делить за-

ранее, чтобы потом, в случае удачной охоты, охотники при дележке добычи не поубивали друг друга. Переговоры с зам.директора длились полгода. Причем, они велись очередным посредником, который в ходе переговоров попытался... возглавить проект! За полгода были всё же проведены испытания и получены хорошие результаты. Сделанные по нашей технологии безнитритные сардельки по всем по показателям оказались лучше традиционных. Я был уверен, что вот уж теперь-то разработка будет внедрена. Ничего подобного. Зам.директора ультимативно объявил весьма скользкие условия, а заодно намекнул, что покупка немецких пищевых добавок лично ему гораздо выгодней... Я намёк намеренно не понял и я сказал «до свидания».

Один из мясокомбинатов Санкт-Петербурга пошел-таки на подписание договора. Я приехал туда, чтобы провести испытания. К сожалению, на этом «передовом» предприятии не было никакой лаборатории. Да что там лаборатории! Не было даже рН-метра. Они вообще никак не контролировали приборами сырье и продукцию. Сделают колбасу или сардельки, понюхают, покусывают, посмотрят цвет – годится! У них даже не оказалось герметичной тары, куда надо промалывать мясо в момент удаления кислорода. Пришлось проводить испытания почти «тяп-ляп». Три дня я вкалывал вместе с их технологом, испытывая биодобавки на разных этапах промола мяса, перемешивания фарша и изготовления сарделек. Кругом в цехах лежали горы говядины и свинины. Они лежали, лежали и - протухали по много часов. После промола они снова лежали-лежали. Температура в цехе была не 12 градусов, как положено, а 18. Я понял: колбасу тут делают из тухлятины. Кстати, вообще все мы, кто ест мясо и колбасу, по сути дела – трупоеды и химиеды. Три из четырех биодобавок не сработали. Я решил, что дело в том, что долго лежавшее промолотое мясо успело протухнуть: митохондрии сдохли, не могут дышать. Ведь моя технология не пригодна для тухлятины. Руководство мясокомбината восприняло отрицательный результат очень просто: значит, нет никакого изобретения! Однако неожиданно выяснилось еще кое-что: в ходе испытаний технолог, ничего мне не сказав, заложила в фарш сорбиновую кислоту - мощный консервант.

Год назад на другом предприятии в Санкт-Петербурге были проведены успешные испытания на колбасе и сосисках. Но, как только дело дошло до полной оплаты по Договору, руководство не выполнило своих обязательств.

Одна доктор наук из Воронежа, много лет занимающаяся методиками контроля фарша, воспроизвела у себя часть моей разработки и получила хорошие результаты, позволившие втрое снизить количество нитритов. Она сертифицировала технические условия, и по ее рецепту начали пробовать делать безнитритную колбасу (правда пока вроде не слишком успешно).

Когда у меня «заимствуют» идеи или результаты, стараюсь радоваться; ведь это высшая оценка, которую можно заслужить у современников.

В Роспатенте моя заявка на технологию «пылилась» два с половиной года, а нынче уж почти год «пылится» вторая заявка – на биодобавки.

Вот так у нас в стране поддерживают инновации...

В экспериментальной лабораторной работе на разных этапах принимали участие сотрудники, аспиранты и магистранты ИБК РАН. Автор выражает признательность Д.А. Е.Н. Рябоконь, А.Ф. Ревину, Н.В. Лазаревой, А.Н. Зининой, О.В Змеевской и др.

При написании данной монографии были использованы не только указанные в списке литературы книги и статьи, но также материалы из интернета и Википедии.

*Доктор биологических наук,
ведущий научный сотрудник ИБК РАН
Векшин Н.Л.*

*г..Пушино, 142290,
Московская область,
ул. Институтская-3 , ИБК РАН*

*<http://www.photon-vek.narod.ru>
nvekshin@rambler.ru
Тел. (4967) 73-94-32*

Биохимические процессы в мясном фарше

Получение из какой-либо животной ткани различных гомогенатов, в частности мясных фаршей, неизбежно сопровождается повреждением клеток, а значит – началом порчи.

В результате разрушения клеток мышечной ткани происходит: а) образование большого количества липидных перекисей, возникающих в ходе свободно-радикальных реакций; б) активация лизосомальных протеолитических ферментов; в) кальций-индуцированная активация фосфолипаз; г) денатурация и агрегация белков; д) нарушение осмотического баланса и потеря ионов; е) обсеменение аэробными и анаэробными микроорганизмами, ж) утрата естественной красно-розовой окраски и приобретение темно-коричневого цвета (из-за перехода оксимиоглобина в метмиоглобин).

Особую роль в процессах клеточного повреждения играют (наряду с лизосомами, пероксисомами и микросомами) митохондрии - органеллы, ответственные за синтез АТФ, потребление кислорода (внутриклеточное дыхание), метаболизм ди- / трикарбоновых кислот, транспорт ионов и т.д.

Митохондрии в клетках мышц млекопитающих составляют около 30 % сухой массы. При повреждении клеток дыхание митохондрий становится неуправляемым, а после истощения эндогенных субстратов дыхательной цепи в клетке появляется большое количество активных форм кислорода и перекисей, с которыми уже не справляются ни супероксиддисмутаза, ни каталаза, ни пероксидаза, ни мембранные антиоксиданты. Этот лавинообразный процесс усугубляется молекулами гемоглобина и миоглобина, освобождающимися из тканей при повреждении (из кровеносных капилляров и цитоплазмы, соответственно) и дополнительно высвобождающими кислород (Jones D. et al // BBRC, 1982, V.105, 419-424; Bucci E. et al. // Biophys. J. 1998, V. 74, 2638-2648; Wittenberg J. // J. Exper. Biol. 2003, v.206, 2011-2020; Jurgens K. et al. // News Physiol. Sci. 2000, V.15, 269-274; Постникова Г.Б. и др. // Биофизика. 2005. Т. 50. N 2).

Транспорт и метаболизм ди- / трикарбоновых кислот тесно связан с транспортом внутриклеточного кальция. Ди- / трикарбоновые кислоты сильно действуют на закачку и выброс кальция из митохондрий и саркоплазматического ретикулума. Ди-/ трикарбоновые кислоты (особенно - глутамат) активируют энергизованную закачку кальция в митохондрии и влияют на резервную емкость митохондрий в отношении кальция. Причиной этого является то, что эти вещества содержат две или три COO^- группы, способные хелатировать двухвалентные ионы железа, кальция и др. Поэтому очень важно учитывать влияние ионов железа, кальция и магния на митохондриальное дыхание, активируемое при добавлении к мышечному гомогенату различных ди- / трикарбоновых кислот или NADH.

Научные исследования, проводимые в нашей лаборатории в Институте биофизики клетки РАН в этом направлении (Векшин Н.Л. // Биохимия, 1998,

т. 63, 117-120; Векшин Н.Л., Шарова И.В. // Биол. мембраны, 2004, т.21, 133-137), явились фундаментальной базой для последующих прикладных разработок.

Наши прикладные работы были нацелены на разработку эффективных биофизических способов совершенствования основ технологии мясоперерабатывающего производства (в частности – путем резкого уменьшения кислород зависимых молекулярных повреждений при разрушении мышечных клеток) с целью существенного улучшения качества и удлинения сроков хранения мясного фарша, а также для получения безнитритных мясопродуктов, без химических консервантов. В частности, удалось устранить образование и накопление опасных липидных перекисей, возникающих в результате свободнорадикальных реакций в мембранах при активации внутриклеточного кислорода до супероксида железом-содержащими белками и гем-белками. Для этого производилось быстрое и полное удаление кислорода путем использования для этого природных субстратов дыхательной цепи и кислород-вытесняющей буферной среды (“антикислородный буфер”).

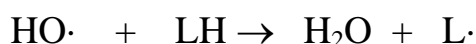
Перекисное окисление липидов

Жировая ткань – разновидность соединительной ткани, которая входит в состав мяса. Животные жиры – это смесь одно- и разнокислотных триглицеридов, небольших количеств моно- и диглицеридов, а также свободных жирных кислот.

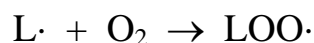
Перекисное окисление липидов (ПОЛ) является неизбежным метаболическим процессом, представленным практически во всех органах и тканях млекопитающих.

Реакция цепного окисления липидов играет исключительную роль в клеточной патологии. Реакция протекает в несколько стадий, которые получили название инициирование, продолжение, разветвление и обрыв цепи. Рассмотрим эти стадии подробнее.

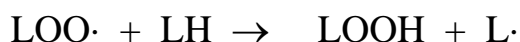
Инициирование цепной реакции начинается с того, что в липидный слой мембран или в липопротеины внедряется свободный радикал. Чаще всего это радикал гидроксила. Будучи небольшим по размеру и незаряженным, он способен проникать в толщу гидрофобного липидного слоя и вступать в химическое взаимодействие с полиненасыщенными жирными кислотами (LH), входящими в состав биомембран и липопротеинов плазмы крови. При этом образуются липидные радикалы:



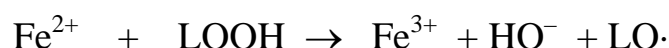
Липидный радикал (L·) вступает в реакцию с растворенным в среде кислородом; при этом образуется новый свободный радикал – радикал липоперекиси (LOO·):



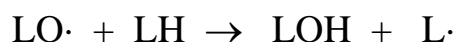
Этот радикал атакует одну из соседних молекул фосфолипида с образованием гидроперекиси липида LOOH и нового радикала L·:



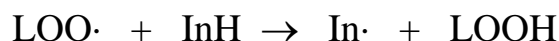
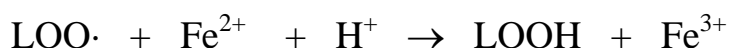
Чередование двух последних реакций как раз и представляет собой цепную реакцию перекисного окисления липидов. Существенное ускорение перекисидации липидов наблюдается в присутствии небольших количеств ионов переходных металлов - двухвалентного железа (этого железа в клетках мышц более чем предостаточно) или кобальта. В этом случае происходит разветвление цепей в результате взаимодействия Fe²⁺ с гидроперекисями липидов:



Образующиеся радикалы LO· инициируют новые цепи окисления липидов:



В биологических мембранах такие цепи могут состоять из десятка и более звеньев. В конце-концов цепь обрывается в результате взаимодействия свободных радикалов с антиоксидантами (InH), ионами металлов переменной валентности (например, теми же ионами железа) или друг с другом:



При переработке и хранении жировой ткани под влиянием биологических и физико-химических факторов происходят различные превращения, в том числе окисление. В результате изменяются химический состав жира, его органолептические показатели и пищевая ценность продукта. При окислительных процессах образуются и накапливаются низкомолекулярные соединения (пероксиды, кетоны, жирные низшие кислоты, альдегиды), ухудшающие вкус и аромат жира.

Неблагоприятное влияние на вкус и аромат жира оказывают альдегиды и метилкетоны (Коренман и др., 2005).

Среди разнообразных биологических соединений наиболее восприимчивы к окислению молекулярным кислородом ненасыщенные липиды, в том числе полиненасыщенные жирнокислотные остатки фосфолипидов – структурных компонентов биологических мембран: $RH + O_2 \rightarrow ROOH$. Этот путь окисления получил название “перекисного”. Он характерен для различных внутриклеточных мембранных образований: эндоплазматического ретикула, ядер, митохондрий, лизосом. Образование перекисных группировок в жирнокислотных цепях фосфолипидов может иметь заметный биологический эффект, вследствие повреждения мембраны, изменения ее проницаемости для ионов и неэлектролитов, а также инактивации мембраносвязанных ферментных комплексов. Одним из сильнейших активаторов молекулярного кислорода является комплекс Fe^{2+} с аскорбатом (Козлов, 1977).

Показано, что в различных тканях в процессе метаболизма происходит накопление продуктов свободнорадикального окисления липидов. Для активно метаболизирующих тканей характерен более высокий уровень интенсивности процессов перекисного окисления липидов (Козлов и др., 1972). С наибольшей интенсивностью окисление липидов протекает в поврежденных частицах, содержащих электрон-транспортные цепи (в митохондриях и микросомах.).

Любое воздействие, приводящее к разрыхлению структуры мембраны, вызывает усиление процесса перекисного окисления липидов. Так, дезинтегрирование мембраны при помощи хаотропных агентов резко активизирует в митохондриях и микросомах процесс липопереокисления (Козлов, 1977).

Образование липидных перекисей резко ускоряется при инкубировании митохондрий в присутствии целого ряда веществ: 1) нуклеотидов аденинового ряда; 2) восстановителей типа аскорбиновой кислоты, цистеина и восстановленного глутатиона; 3) хаотропных веществ.

Прямая связь перекисного окисления с транспортом электронов отсутствует; тем более оно не зависит непосредственно от энергизации мембраны при окислительном фосфорилировании. Но имеется заметное влияние некоторых групп белков и липидов мембран, а также ортофосфата и аденозинфосфатов на перекисное окисление. Активирующее влияние фосфатов связано с ускорением образования радикалов при окислении ионов двухвалентного железа. Значение этого фактора наиболее ясно в том случае, когда к митохондриям добавлялись извне соли двухвалентного железа. Если же ионы Fe^{2+} специально не добавлялись, то их образование из ионов Fe^{3+} , присутствующих в митохондриях и других клеточных органеллах, может осуществляться эндогенными восстановителями, среди которых наиболее вероятные – сульфгидрильные группы митохондриальных белков.

Наиболее важные изменения в белковых молекулах, вызываемые окисленными липидами, заключаются в образовании комплекса «окисленный липид-белок», полимеризации белковых молекул и разрушении аминокислот, в особенности содержащих SH-группы. Среди аминокислот, чувствительных к действию липидных перекисей, на первом месте стоит цистеин,

затем следуют гистидин, серин, пролин, аргинин, метионин, фенилаланин и тирозин.

Кроме образования белок-липидных комплексов, обработка белковых молекул окисленными липидами может привести к появлению полимерных продуктов. Образование димеров и полимеров объясняют формированием поперечных связей в белковых молекулах. Из продуктов перекисного окисления липидов наибольшую роль в образовании таких связей играет малоновый диальдегид.

Обнаружено, что при добавлении к митохондриям комплекса АДФ с трехвалентным железом происходит связывание последнего и его частичное восстановление. Ионы трехвалентного железа, содержащиеся в препарате или самих митохондриях, связываются с аденозинфосфатами и катализируют ПОЛ.

Имеются две основные радикал-генерирующие системы:

- 1) система обратного окисления Fe^{2+} до Fe^{3+} кислородом воздуха, активируемая ортофосфатом и особенно аденозинфосфатами;
- 2) система разложения гидроперекисей липидов и разветвления цепей окисления.

Таким образом, перекисное окисление липидов митохондрий даже в системе, где присутствуют субстраты дыхания и кофакторы окислительного фосфорилирования, в конечном итоге все равно катализируется ионами железа, которые входят в состав железо-серных белков, а также гем-белков.

Эндогенное негеминовое железо может высвобождаться из митохондрий. Такое высвобождение может быть вызвано добавлением, например, аскорбиновой кислоты. Это приводит к резкому стимулированию процессов перекисного окисления.

Одновременно аскорбат выполняет и вторую функцию, восстанавливая Fe^{3+} до Fe^{2+} и поддерживая тем самым на определенном уровне концентрацию прооксиданта, расходуемого в ходе радикалообразования за счет окисления кислородом или разложения гидроперекисей (Владимиров, Арчаков, 1972).

На скорость перекисного окисления влияют вещества, активно реагирующие с перекисными радикалами и меняющие их стационарную концентрацию – антиоксиданты. Это вещества тормозят общую скорость окисления, будучи введены в систему даже в небольшой концентрации: 10^{-3} - 10^{-5} М. Концентрационный диапазон действия антиоксидантов является важным условием, определяющим цепной характер процесса окисления; малые добавки веществ существенно меняют общую скорость процесса окисления (Храпова, 1977).

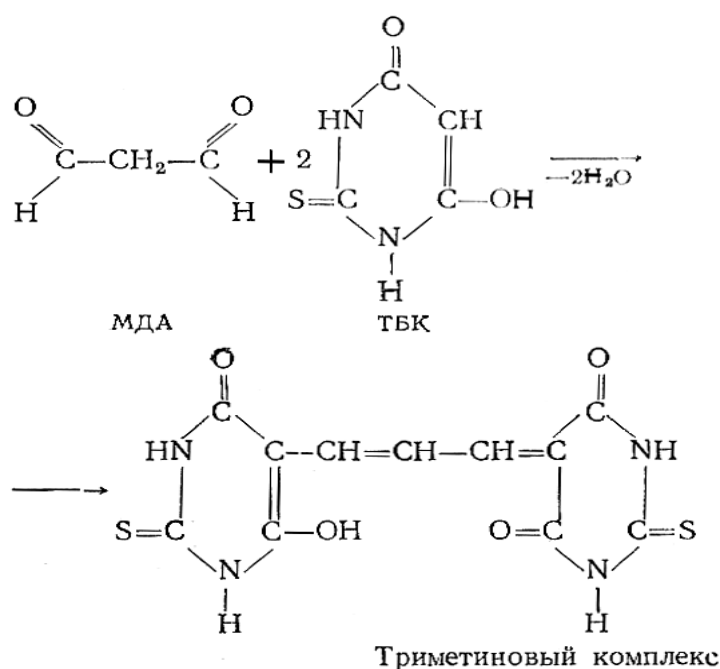
Природными ингибиторами, выступающими в качестве ловушек гидроксильных и липидных радикалов, являются различные токоферолы, стероидные гормоны, убихиноны, витамин К, пуриновые основания и другие вещества. Тормозящее действие антиоксидантов в целом складывается из способности этих ингибиторов реагировать со свободными радикалами, актив-

ности радикалов, образующихся из молекул ингибитора, а также способности ингибитора или его радикала разрушать гидроперекиси без образования свободных радикалов. Соотношение между этими факторами в свою очередь зависит от липидного окружения, рН, температуры, концентрации ингибитора и его, окисленных и восстановленных форм, присутствия примесей, способных выполнять роль инициаторов или синергистов перекисного окисления липидов.

Одними из наиболее мощных и изученных природных антиоксидантов являются токоферолы (витамины группы Е) – соединения, синтезирующиеся в растениях и попадающие в организм животных и человека с пищей. Ингибирующее действие токоферола на процесс перекисного окисления липидов реализуется двумя путями: а) вследствие конкуренции за восстановительные эквиваленты электрон-транспортной цепи – генераторы активных форм кислорода; б) за счет собственно антирадикального действия: перехват свободных радикалов (Каган и др., 1986).

В биохимических исследованиях часто применяется метод определения липидных перекисей по реакции с 2-тиобарбитуровой кислотой (ТБК). Этот метод впервые описали в 1944 году Кох и Ливерседг. Они обнаружили вещество, образующееся в результате аэробной инкубации тканевого гомогената и дающее колориметрическую реакцию с ТБК. Позднее Паттон и Куртц определили это вещество как малоновый диальдегид (МДА), побочный продукт перекисного окисления липидов. Реакция МДА с ТБК широко распространена как чувствительный метод определения липидов (Ohishi, 1979).

В основе метода лежит реакция между МДА и ТБК, которая при высокой температуре и кислом значении рН протекает с образованием окрашенного триметинового комплекса, содержащего одну молекулу МДА и две молекулы ТБК.



Максимум поглощения комплекса находится при длине волны 532 нм. Метод по обнаружению МДА ценен тем, что позволяет проводить анализ непосредственно в гомогенатах или клеточных фракциях (Стальная, Гаршвили, 1977). В ИБК РАН проводятся исследования по совершенствованию ТБК-теста, чтобы с его помощью на мясокомбинатах проверяли качество мясосопродукции (Векшин и др., 2007).

Применение этого метода для анализа перекисного окисления в колбасном фарше описано в отдельной главе.

История традиционной мясопереработки

Для консервирования продуктов в течение многих тысяч лет применялась поваренная соль. Например, соль использовалась для сохранения мяса в Месопотамии ещё 5 тысяч лет назад. Древнеримский писатель Като почти научно объяснил необходимость посола скоропортящегося мяса.

Одними из наиболее распространённых продуктов переработки мяса являются колбасные изделия. В их основе находится мясной фарш (смешанный с жиром, специями, солью и др.), спрессованный в кишке или искусственной оболочке.

Первые письменные упоминания о колбасе можно встретить в китайских, вавилонских и греческих источниках. Одно из упоминаний о блюде, похожем на колбасу, найдено в древнегреческой пьесе «The Orya» или «The Sausage». Написана она было в 500 г. до н.э. Позднее это слово довольно часто встречается в греческих письмах. Позже описания колбасы были и в других источниках, например, у Гомера в Одиссее, а Эпихарм даже написал комедию «Колбаса».

Из Греции рецепт перекочевал в Рим, там тоже любили покушать, и тоже было жарко, а жара, как известно, очень быстро портит мясо. Для его сохранности очищенные кишки набивали рубленным мясом, специями и солью, связывали концы и подвешивали подвялиться в тени.

Не известно, кто первый додумался коптить колбасу. Колбаски, подвешенные над дымом, сушились намного быстрее, пропитываясь ароматом веток. Дым обеспечивал отсутствие мух и их личинок, такая колбаса, кроме своего особенного вкуса и аромата, была безопасней в плане гигиены и дольше хранилась.

В течение прошедших столетий разнообразные колбасы и сосиски стали важнейшим пунктом меню человека. В эпоху расцвета католичества продукт в Европе стал одним из самых любимых.

В зависимости от географического положения в разных частях мира появлялись различные рецепты колбас, которые более всего подходили для того или иного климата. Для прохладных районов северной Европы, когда сырое мясо может довольно долго храниться без специального охлаждения, оказались более пригодные сырые колбасы. Для того, чтобы сохранить мясо

в теплые месяцы применялось копчение. Так появились сырокопченые колбасы.

В более южных районах Европы, а также в Азии оказалось целесообразнее готовить сухие колбасы: в этом случае колбаса без дополнительной обработки высушивалась на солнце. Примером такого способа приготовления могут служить суджук и бастурма. Существует мнение, что кочевники из азиатских степей хранили суджук в сумках под седлом. Именно там осуществлялся последний этап приготовления; высушиваясь, суджук приобретал также специфическую форму.

Со временем люди, живущие в тех или иных городах, стали придумывать собственные рецепты, давая готовому продукту звучное запоминающееся имя. Так появились венские колбаски, итальянские, английские, камберлендские...

В баварском местечке Гассельдорф местные жители установили памятник своему земляку Йоханну Георгу Ланеру. Считается, что именно он изобрел сосиску. На монументе укреплен бронзовый памятник с изложением истории создания сосисок. В 1804 году Йохан Георг Ланер переехал из Франкфурта (где он обучался ремеслу мясника) в Вену и открыл там лавку. Годом позже Ланер представил покупателям свое изобретение — сосиску, которую называли «франкфуртской» или «венской».

В России слово «колбаса» известно с XII-го века; оно фигурировало в новгородской берестяной грамоте, как обычный продукт. По-видимому, это слово заимствовано из тюркских языков (балкарское «кьолбаса»: «кьол» - рука, «бас» - давить). В России мастерские по производству колбас появились в XVII веке.

На протяжении последних двух веков при приготовлении колбасных изделий использовали не только поваренную соль, но и селитру. Как было установлено в конце XIX-го века, активным агентом селитры является, прежде всего, нитрат натрия (NaNO_2). Формально, с точки зрения химии, нитрит натрия это тоже соль. Но как консервант он гораздо эффективней поваренной соли (NaCl).

Традиционные способы консервации мяса и фарша

Работа с парным мясом требует оперативности в технологическом процессе (от убоя до термообработки должно быть затрачено не более трех часов) и применения специальных приемов, направленных на задержку взаимодействия актина с миозином, на подавление гликолиза, аутолиза и перекисного окисления липидов.

Таковыми приемами являются (Антипова Л.В., Глотова И.А., Жаринов А.И. Прикладная биотехнология. Воронеж, 2000):

а) быстрое замораживание обваленного парного мяса путем введения твердой углекислоты.

- б) обвалка парного мяса, быстрое измельчение и посол с введением 2-4 % хлорида натрия;
- в) введение рассолов через кровеносную систему одновременно с обескровливанием при убое животных;
- г) инъектирование рассолов в отруба непосредственно после разделки парных туш;
- д) применение сублимационной сушки парного мяса.

Углекислота позволяет вытеснить внеклеточный кислород, а замораживание останавливает порчу мяса.

Посол мяса или введение рассолов позволяет с помощью высокого осмотического баланса замедлить активацию фосфолипаз, протеиназ и т.д.

Недостатком таких приемов является то, что не удаляется внутриклеточный кислород и поэтому не полностью приостанавливаются свободно-радикальные реакции. Поэтому все последующие процедуры с необходимостью включают в себя заморозку-разморозку, обработку фаршевого гомогената нитритами, нитратами, фосфатами и прочими мощными консервантами и искусственными стабилизаторами.

Для предотвращения деструкции и прогорклости мясoproдуктов при переработке и хранении широко используются следующие меры: охлаждение, откачка воздуха (вакуумирование), обработка нитритами, введение химических стабилизаторов и консервантов, добавление солей, антиоксидантов и антибиотиков.

К сожалению, эти меры оказываются эффективными не всегда и не полностью. Особенно это касается длительного хранения мясных фаршей и различных получаемых из них пищевых продуктов.

Откачка воздуха позволяет удалить кислород из воздушного пространства емкости, в которой хранится продукт, и частично - из межклеточного пространства, но она не удаляет тот кислород, который исходно содержится в цитоплазме клеток (в молекулах миоглобина), в клеточных мембранах и в кровеносных капиллярах (в молекулах гемоглобина).

Образование активных форм кислорода при приготовлении и переработке мясной продукции принято подавлять с помощью нитритов, обеспечивающих при этом сохранение нужной окраски (Кудряшов Л.С., Баймишев Р.Х. // ИБ Мясные технологии, 2005, N 1, с.20). Нитриты и консерванты, связываясь в фарше с гемоглобином, миоглобином, митохондриальной цитохромоксидазой и другими гем-содержащими белками, блокируют восстановление внутриклеточного кислорода до супероксида. Кроме того, нитриты обладают бактерицидным действием (Горбатов В.М., Заяс Ю.Ф., 1975).

Но нитриты и химические консерванты являются далеко не безвредными веществами. Попадая с пищей в организм, они блокируют функционирование гем-белков человека, приводя к ряду заболеваний, в том числе - онкологических. Хорошо известен факт, что работники мясокомбинатов, регулярно и обильно питающиеся колбасными изделиями, по статистике, под-

вержены онкологическим заболеваниям многократно выше, чем другие группы населения.

Использование фосфатов, широко практикуемое на мясокомбинатах (для стабилизации и увеличения связывания воды), имеет тот недостаток, что избыточные фосфаты, как давно известно (Рощупкин Д.И. и др. / Сверхслабые свечения в биологии. М.: МОИП, 1972, 75-77), являются катализаторами в реакциях образования свободных радикалов, индуцируемых ионами железа. Избыточные фосфаты взаимодействуют в клетках с железо-белками и свободными ионами железа. В результате образуются полимероподобные железо-фосфатные комплексы (Кулаев И.С. Неорганические полифосфаты и их физиологическая роль. Баховские чтения. М.: Наука, 1975). Они служат мощными прооксидантами, ведущими к перекисному окислению липидов, к "незримой" порче фарша и мясопродуктов. Причем, особенно опасно для потребителя то, что задолго до прогоркания количество липидных перекисей может быть столь велико, что, попадая с пищей в организм, они вызывают лавину свободно-радикальных цепных реакций перекисного окисления в клетках человека и наносят здоровью огромный вред.

Нитриты и фосфаты, казалось бы, в малых дозах не слишком токсичны, но, попадая в организм, они неизбежно срабатывают как "мины замедленного действия". В организме человека нитриты блокируют функцию гембелков (миоглобина, гемоглобина, цитохромоксидазы и др.), а избыточные фосфаты, соединяясь с ионами железа или железо-белками, катализируют цепную реакцию перекисного окисления липидов. Это ведет к утрате здоровья и многим тяжелым заболеваниям.

Различные виды колбас

Колбасное изделие — формованный пищевой продукт из рубленного мяса, фарша, шпика и мясных субпродуктов, обработанный механическим и физико-химическим способами, с добавлением некоторых других пищевых веществ. Механическая обработка заключается в удалении из исходного сырья несъедобных, малопитательных частей (это, к сожалению, производителями мало соблюдается) и его измельчении. К физико-химической обработке относятся посол, созревание, обжарка, варка, копчение, ферментация и т.д.

Колбасные оболочки

Для придания колбасным изделиям определённой формы и защиты их от вредных внешних воздействий применяются различные оболочки. Их можно разделить на натуральные (черевы, синюги) и искусственные (белковые, целлюлозные, из полиамидных плёнок). Они подразделяются на барьерные и проницаемые. Барьерные позволяют сохранять колбасные изделия длительное время, до 90 дней. В барьерных оболочках выпускаются в основном варёные колбасы. Многие проницаемые оболочки позволяют произво-

дить последующее копчение и обжарку. К барьерным оболочкам относятся полиамидные оболочки. К искусственным проницаемым колбасным оболочкам относятся целлюлозные, полиамидные, текстильные.

Виды колбасных изделий

Различают колбасные изделия варёные (в том числе сосиски и сардельки), полукопчёные, копчёные, копчёно-варёные, ливерные, зельцы и студни. Сырьём для них служит нежирная говядина, свинина, шпик, реже — баранина, конина, мясо птиц. На ливерные колбасы, зельцы, студни используют мясные субпродукты (печень, мозги, сердце и другие). Пищевую кровь убойных животных применяют при выработке кровяных колбас. Для обогащения колбасного фарша полноценными белками в него добавляют плазму пищевой крови, цельное и обезжиренное молоко, молочный белок, яйца. Улучшение вкусовых достоинств колбасных изделий достигается также добавлением сахара, специй, пряностей (перец, мускатный орех, чеснок и другие). С целью сохранения красного мясного цвета вводят, в частности, слабый раствор нитрита натрия.

Вареная колбаса

Вареные колбасы изготавливаются из просоленного фарша. Их варят при температуре около 80 градусов. Варёные колбасы наиболее популярны. Варёные колбасы могут содержать большое количество сои, а могут быть вообще вегетарианскими - с соей или сейтаном вместо мяса. В последнее время соя используется в основном генно-модифицированная (ГМО).

На сколько опасно употребление в пищу ГМО, до сих пор не известно. Однако в лабораторных опытах показано, что мыши, питающиеся только ГМО, отстают в развитии, чаще болеют и дают уродливое потомство, не способное к продолжению рода.

Из-за содержания большого количества воды вареные колбасы долго не хранятся. Зато за счёт веса воды мясокомбинаты получают огромную прибыль. Варёные колбасы содержат 10-15 % белка, 20-30 % жира. Энергетическая ценность составляет 220-310 ккал на 100 г.

Фаршированная колбаса

Фаршированные колбасы представляют собой наивысшие сорта вареных колбас. Они обладают самым изысканным и тонким вкусом и привлекательным внешним видом. Готовят фаршированные колбасы из лучшего отборного телячьего мяса, нежирной свинины, шпика, языка с добавлением молока, масла, яиц, фисташек. В последние годы изысканный тонкий вкус создаётся в основном синтетическими ароматизаторами и прочей химией.

Варено-копченая колбаса

Варёно-копчёные колбасы сначала варят, а потом подвергают копчению. Они содержат больше специй, чем варёные колбасы. Специи не только создают неповторимый вкус, но и обладают бактерицидной функцией. В отличие от варёных колбас (в которых фарш представляет однородную массу) варёно-копчёные могут состоять из мелких кусочков определённого размера. В качестве добавок используются молоко, сливки, мука, шпик и крахмал. Многие изготовители добавляют туда также различные стабилизаторы и консерванты. Варёно-копчёные колбасы содержат 10-17 % белка, 30-40 % жиров, их энергетическая ценность — 350-410 ккал на 100 г. Срок хранения в холодильнике не более 15 суток.

Сырокопчёная колбаса

Сырокопчёные колбасы это колбасы твёрдого «холодного» копчения. Они изготавливаются без термической обработки. Поэтому велика опасность микробного обсеменения. Холодное копчение происходит при 20-25 градусах, мясо подвергается ферментации и обезвоживанию. Созревание сырокопчёных колбас длится не менее 30 суток. Сырокопчёные колбасы содержат наибольшее количество специй; также возможно добавление коньяка. Специи и коньяк обеспечивают специфический вкус, а также защищают от опасных бактерий. По новой технологии эти колбасы производятся менее чем за 21 день. Это достигается за счёт глюконодельталактона (кислоты, влияющей, в частности, на изменение pH) и стартовых культур - чаще всего дрожжевых микроорганизмов (они для человека практически безвредны), которые питаются внесённым в рецептуру сахаром. Ферментация производится за счёт выделения ими продуктов жизнедеятельности. Сырокопчёные колбасы содержат 13-28 % белка, жира 28-57 %; энергетическая ценность 340-570 ккал на 100 г.

Сыровяленая колбаса

Сыровяленые колбасы производятся из фарша маринованного мяса. Маринад создаёт особый вкус и убивает вредные микроорганизмы. Эти колбасы копятся в холодном дыме 3-4 суток. Происходит ферментация мяса и его обезвоживание, после чего оно вялится при температуре 15-18 градусов.

Полукопченая колбаса

Полукопчёные колбасы сначала обжаривают, затем варят и после коптят. Полукопчёные колбасы на вид и вкус часто почти неотличимы от варёно-копчёных колбас, но при термообработке происходит меньшая потеря ве-

са, а копчение менее выражено. Термообработка обеспечивает обеззараживание.

Кровяная колбаса

Главным ингредиентом кровяных колбас является бычья, телячья или свиная кровь, очищенная от фибрина (кусочков свернувшейся крови). Эта колбаса содержит огромное количество гемоглобина. Поэтому она полезна для людей с дефицитом гемоглобина. Но из-за высокой прооксидантной активности гемоглобина такая колбаса содержит большое количество перекисей липидов, что не является полезным.

Ливерная колбаса

Ливерная колбаса изготавливается из субпродуктов — печени, почек и т.д. Основной компонент ливерных колбас это говяжий и свиной ливер, субпродукты. Используется натуральная оболочка, которая заполняется нежным фаршем. Тонкое измельчение фарша придает колбасе нежную пастообразную консистенцию. Поскольку печень является органом, в котором происходит микросомальная детоксикация вредных веществ, попадающих в организм животного, то печёночная ткань и, значит, ливерная колбаса, содержит высокое количество этих вредных веществ, которые могут быть не безопасны для человека.

Зельцы

Зельцы это варёные прессованные колбасные изделия в оболочке. Готовятся из свиного и говяжьего мяса, шпика, а также языков, печени и других субпродуктов. Немецкий Sulze, от которого произошло русское слово "зельц", является немецкой разновидностью холодца (студня).

Суджук

Суджук - сорт бараньей или говяжьей колбасы с бараньим или говяжьим салом. От других видов колбасных изделий суджук отличается тем, что эту прессованную, плоскую по форме, колбасу не варят и не коптят, как все другие колбасы, а сушат. Это создаёт высокую опасность сохранения в изделии болезнетворных бактерий. Суджук обильно приправлен специями и пряностями: перец, тмин, чеснок и др. Наиболее бактерицидным является чеснок.

Сосиски и сардельки

Сосиски (от фр. *saucisse*) — небольшие колбасные изделия, которые изготавливаются из измельчённого варёного мяса животных или птицы, или его заменителей (последнее нынче особенно принято). По сути, сосиски представляют собой маленькие колбаски, однако, в отличие от обычной колбасы обычно употребляются в пищу после некоторой термической обработки (варки или жарки). Сосиски близки таким разновидностям колбасных изделий, как шпикачки. Толстая короткая сосиска известна как сарделька.

Сосиски и сардельки представляют собой разновидность варёной колбасы. Продукция высшего сорта изготавливается из жирной свинины и говядины, а свиные сосиски включают в состав исключительно полужирную свинину.

Как уже говорилось, современные сосиски изобрёл в начале XIX-го века немецко-австрийский мясник Иоганн Ланер. Спор о сосисочном приоритете между австрийской Веной немецким Франкфуртом ведётся давно. Во Франкфурте сосиски изготавливались со средневековья, но в венских сосисках впервые использовали смесь говядины и свинины — рецептура, по которой производятся современные сосиски. Сосиски являются главным продуктом немецкой кухни.

В Советском Союзе массовое производство сосисок было начато в 1936 году, когда нарком пищевой промышленности Анастас Микоян подписал приказ о производстве новых мясных продуктов. В эти же годы в Москве, Ленинграде и Свердловске было построено двадцать крупных мясокомбинатов.

Сосиски отличаются не только по размеру, но и по цвету. Если сосиски ярко розового цвета, это значит, что производитель добавил туда больше красителя. Как правило, это химический синтетический краситель.

Сосиски должны быть упругими и после нажатия восстанавливать форму. На сосисках не должно быть жировых подтеков. Если сосиска в искусственной оболочке, то она должна быть гладкой. В замороженном виде сосиски могут храниться около месяца.

Разновидности сосисок: диетические (из мяса птицы), соевые (обычно ГМО), сосиски-гриль, молочные (в состав входит молоко сухое обезжиренное; содержат не более 28 % жира), охотничьи (тонкие сильно копчёные, мюнхенские (белые; они не содержат добавленных нитритов и нитратов, но обязательно содержат петрушку или сельдерей, в которых много нитритов, что и обеспечивает сохранность белых сосисок).

Сосиски производятся как в натуральной оболочке из кишок животных или желатина, так и в полиамидной (оболочка из натуральных продуктов пригодна для употребления в пищу).

Процесс колбасного производства

Производство колбасных изделий включает в себя следующие операции:

Обвалка — разделка туш животных, отделение мяса от костей.

Жиловка — разделение мяса по сортам (свинина: жирная, нежирная, полужирная; говядина: высший сорт, первый сорт, второй сорт).

Фаршесоставление — производство фаршей посредством смешивания компонентов и их измельчения в колбасных куттерах.

Формовка — наполнение колбасных оболочек фаршем с помощью колбасных шприцев и заделка концов оболочки на клипсаторах.

Осадка — выдерживание колбасных батонов с фаршем при низкой температуре до начала термообработки, в соответствии с технологией производства конкретной колбасы.

Термообработка — процессы подсушки, обжарки, варки и копчения колбас в колбасных термокамерах, процесс душирования (охлаждения колбас водой и воздухом).

Для предотвращения деструкции и прогорклости фарша и колбасных изделий на мясокомбинатах широко используются охлаждение и вакуумирование.

Технологическая схема производства колбасных продуктов (деликатесных варено-копченых, копчено-вареных, копчено-запеченных, сырокопченых) запеченных заключается в следующем:

1. Подготовка сырья: размораживание, разделка говяжьих туш на отруба, обвалка, жиловка, придание формы.
2. Подготовка соли поваренной пищевой; подготовка композиции универсальной многофункциональной пищевой добавки в сухой форме; приготовление раствора нитрита натрия. Приготовление рассолов.
3. Шприцевание рассолом мясного сырья.
4. Посол и подготовка шкуры свиной.
5. Посол и массажирование в массажерах мясного сырья и, если необходимо по рецептуре, шкуры свиной по выбранным режимам.
6. Созревание мясного сырья при температуре 0-4 градуса.
7. Подготовка шпика.
8. Подготовка мясного сырья, свиной шкуры, шпика к термической обработке: обрядка, придание формы, заворачивание в целлофановую или съедобную коллагеновую пленку, набивка в оболочку, вязка шпагатом с образованием петли для подвешивания, одевание сеток и др.
9. Термическая обработка изделий:
 - а) *варено-копченых*: варка при температуре 80-85°C до достижения в толще продукта температуры 72-74 °C; затем охлаждение при температуре 0-4 °C до достижения в толще продукта температуры 12-15 °C; далее копчение при температуре 18-22 °C в течение 6-8 ч;
 - б) *копчено-вареных*: копчение при температуре 80-90°C в течение 1-3 ч или

при температуре 35-50 °С в течение 3-5 ч, затем варка при температуре 83-87 °С до достижения температуры в толще продукта 72-74°С;

в) *копчено-запеченных*: копчение и запекание в обжарочных камерах с подачей дыма при температуре 85-95°С в течение 8-12 ч до достижения температуры в толще продукта 72-74°С;

г) *сырокопченых*: копчение густым дымом при температуре 30-35°С в течение 24-48 ч в обжарочных или коптильных камерах; охлаждение на воздухе в течение 2-3 ч;

д) *запеченных*: запекание в печах с газовым или электрическим обогревом при температуре 120-150°С до достижения температуры в толще продукта 76-78°С; охлаждение в камере при температуре 0-6°С до достижения температуры в толще продукта 0-6°С.

10. Охлаждение (для а, б, в и г) в подвешенном состоянии в камере при температуре 0- 6°С до достижения температуры в толще продукта от 0 до 6°С.

11. Контроль качества готовой продукции.

12. Фасовка, упаковка, маркировка.

Технологическая схема производства продуктов из свинины (деликатесных копчено-вареных, копчено-запеченных, сырокопченых) или птицы аналогична.

Вот один из примеров приготовления колбасных изделий (сарделек):

Подготовка сырья

Говядину 2 сорта и свинину жирную и полужирную измельчают на волчке с диаметром 5 мм для свинины и 3 мм для говядины.

Приготовление фарша

Измельчают говядину 2 сорта + нитрит натрия + соль + краситель + лед 1/2 + специи + джастфайбер + ветчина 100 + пищевая добавка «русская колбаса» + молоко.

Измельчают свинину + яичный порошок + крахмал + часть льда.

Куттеруют фарш (с вакуумированием) до получения однородной эмульсии.

Формовка - в свиную череву диаметром 34-36 мм.

Осадка - при 2-4°С в течении 1-2 часа.

«Холодная» импульсная СВЧ стерилизация мясопродуктов

Производственные процессы пастеризации и стерилизации практически всегда проводятся с нагревом и выдержкой некоторое время при заданной температуре. При этом содержащиеся в продуктах микроорганизмы погибают или лишаются некоторых своих функций.

Однако даже слабые связи в белке живых микроорганизмов можно разрушить лишь при 80 – 100°С и выше. Такие температуры ухудшают вкус продуктов и вызывают распад в них ценных веществ (например - витаминов). Кроме того, для большей части продуктов, провести нагревание без изменения качественных показателей невозможно: они просто сварятся.

Консерванты снижают уровень необходимого нагрева, но сами они небезопасны для человека. Поэтому крайне актуальной является задача поиска способа стерилизации продукта, при котором не происходит нагрева. И если бы такой способ был бы найден и внедрён, это привело бы к революционным изменениям в пищевой технологии.

Ныне существующий способ «холодной» стерилизации (облучение продукта электронами или радиационная стерилизация) не нашел широкого применения в пищевой индустрии поскольку обладает заметными недостатками. При облучении электронами в продукте разрушаются ценные вещества. При избытке электронов происходит образование в продукте свободных радикалов, а при недостатке есть вероятность не полного уничтожения патогенной микрофлоры. В силу разных причин для широкого спектра товаров этот способ практически не применим за исключением отдельных групп, и используется для стерилизации, например, одноразовых шприцов, корреспонденции на почте и т.д.

Есть и другие способы «холодной» стерилизации, например: облучение ультрафиолетом. Но таким способом можно уничтожить микроорганизмы только на поверхности.

Есть и другие способы, но у каждого из них есть существенные ограничения, делающие область их использования чрезвычайно узкой.

Существует еще один способ «холодной» стерилизации. Его действие основано на облучении продукта короткими (3-6 мкс), мощными (несколько МВт) СВЧ импульсами. Принципиальное отличие коротких, но мощных СВЧ импульсов в отличие от СВЧ нагрева в том, что основной фактор, приводящий к разрушению слабых связей в живом белке микроорганизмов - достаточно сильное переменное электромагнитное поле, а не нарастающие с температурой тепловые колебания. Потребляемая электроэнергия настолько мала, что при импульсном СВЧ разряде не происходит заметного нагревания обрабатываемого продукта и полностью сохраняется его биологическая ценность. В результате существенно упрощается технологический процесс, поскольку отпадает необходимость в сложных и дорогостоящих системах асептического розлива и укупорки.

Использование импульсной СВЧ стерилизации может позволить производить мясопродукты при полном отсутствии консервантов. Такое обеззараживание свежего мяса, птицы и рыбы может полностью обезопасить население от вероятности заболеть сальмонеллезом, ящуром, птичьим гриппом и т.д. Кроме того, обработка в СВЧ поле позволит существенным образом продлить сроки хранения в вакуумной упаковке продукции животноводства и птицеводства, а также рыбы и морепродуктов без их заморозки.

Стерилизация продуктов может осуществляться как в потоке, так и в уже расфасованном виде, непосредственно в герметичной стеклянной, пластиковой или бумажной таре.

В нашей стране созданы малогабаритные и надежные источники питания СВЧ генераторов – основа любой установки, а также другие узлы и эле-

менты оборудования. На сегодняшний день нет никаких принципиальных препятствий к коммерциализации данной технологии, начало которой должно положить создание экспериментальной установки.

Работы над этой темой идут с 1993 года. Все работы производились фактически одним человеком – Шмыревым В.В. В силу разных причин (в основном экономических) работы выполнялись разными компаниями «ПРИМА» - Приборы и материалы, НПП «Микроволновая техника», сейчас работы ведет НПК «Практика».

К сожалению, эти разработки до сих пор находятся на стадии лабораторных исследований и не применяются на мясокомбинатах.

Пищевые добавки

Пищевые добавки — вещества, которые в технологических целях добавляются в пищевые продукты в процессе производства, упаковки, транспортировки или хранения для придания им желаемых свойств, например, определённого аромата (ароматизаторы), цвета (красители), длительности хранения (консерванты), вкуса (усилители вкуса), консистенции (загустители) и т. п.

Пищевые добавки никогда не употребляются самостоятельно, а вводятся в продукты питания для придания последним заданных органолептических свойств (вкуса, цвета, запаха, консистенции и внешнего вида), сохранения пищевой и биологической ценности, улучшения условий обработки, расфасовки, упаковки, транспортировки и хранения, а также увеличения сроков хранения продукции.

Пищевые добавки применяются для оберегания колбасы от размножения болезнетворных микроорганизмов (например, возбудителя ботулизма), для улучшения цвета (нитрит натрия), усиления вкуса (глутамат натрия, инозинат натрия), увеличения веса (вода с солями и желатинирующими агентами), и т. д.

Пищевые добавки давно и прочно вошли в мясопереработку, особенно – в изготовление колбас, сарделек, сосисок и т.п. При отсутствии добавок происходит деструкция, прогоркание и порча (Антипова Л.В. и др. Методы исследования мяса и мясных продуктов. М.: Колос, 2004). При этом утрачивается естественная красно-розовая окраска и приобретает темно-коричневый цвет (из-за перехода оксимиоглобина в метмиоглобин).

Большое распространение получили пищевые добавки в виде смесей: нитритные смеси, белковые смеси, фосфатные смеси, смеси натуральных пряностей, смеси водорастворимых пряностей, полифункциональные смеси, ароматизаторы, ускорители созревания и др.

Пищевые добавки обеспечивают стабилизацию фарша, его консервацию, придают ему приятную красно-розовую окраску, а также усиливают связывание воды (с целью увеличения веса и объема). Однако при этом эко-

логическая чистота и безопасность добавок для здоровья потребителя обычно не ставится во главу угла.

Критерием правильности выбираемых пищевых добавок мясокомбинаты считают отсутствие заметной на глаз порчи (почернения, заплесневения) или неприятного запаха получаемого продукта, сохранение приятного цвета продукта и его хорошие вкусовые качества. Производители, как правило, злоупотребляют специями, ароматизаторами, красителями и прочей химией, имитируя природный цвет и вкус.

В последние годы на Западе в качестве безвредного природного консерванта для хранения ряда *молочных* продуктов используются ионы кальция. По-видимому, кальций можно во многих случаях применять и для мясных продуктов. Но его нельзя использовать одновременно в смеси с ди- / трикарбоновыми кислотами и гидрокарбонатом без инертного наполнителя (в противном случае будет нерастворимый осадок), либо применение должно быть разнесено по этапам во времени.

Образование опасных активных форм кислорода при приготовлении и переработке мяса принято подавлять, прежде всего, с помощью нитритов, обеспечивающих при этом сохранение нужной окраски (Кудряшов Л.С., Баймишев Р.Х. // ИБ Мясные технологии, 2005, N 1, с. 20). Нитриты, связываясь в фарше с гемоглобином, миоглобином, митохондриальной цитохромоксидазой и другими гем-белками, блокируют восстановление внутриклеточного кислорода до супероксида. Кроме того, нитриты обладают полезным бактерицидным действием. Именно поэтому активно муссируется вопрос о повышении предельно допустимой нормы добавления нитритов с 7,5 мг%, до 12, 5 мг% (Кудряшов Л.С., Баймишев Р.Х., там же) и даже до 15 мг%.

Однако нитриты, химические консерванты, синтетические антиоксиданты и стабилизаторы являются далеко не безвредными. Попадая с пищей в организм человека, они блокируют функционирование многих ферментов и гем-белков, приводя к ряду заболеваний, в том числе - онкологических. Нитриты, химические консерванты и фосфаты в небольших количествах, казалось бы, не слишком токсичны, но, попадая в организм, как уже говорилось, они неизбежно срабатывают как "мины замедленного действия". Это постепенно ведет к утрате здоровья и многим тяжелым заболеваниям. Нужно заметить, что разовая доза нитрита натрия всего 1 грамм для человека является смертельной. А ведь за год среднестатистический потребитель колбасных изделий получает двойную дозу!

Широкое использование в качестве добавок различных фосфатов, применяемых в основном для усиления связывания воды (чтобы увеличить вес изделия) и поддержать нужный pH, имеет тот недостаток, что избыточные фосфаты являются ингибиторами митохондриальной сукцинатдегидрогеназы (Ленинджер А. Биохимия. М., Мир, 1974 с.190) и, кроме того, напрямую катализируют реакции образования свободных радикалов, индуцируемых ионами двухвалентного железа (Рощупкин Д.И. и др. в сб: Сверхслабые свечения в биологии. М., МОИП. 1972. с. 75-77). Избыточные фосфаты взаимо-

действуют в клетках человека с железо-белками и свободными ионами железа. В результате образуются полимероподобные железо-фосфатные комплексы (Кулаев И.С. Неорганические полифосфаты. М.: Наука, 1975). Они служат мощными прооксидантами, ведущими к перекисному окислению липидов. Причем, особенно опасно для потребителя то, что количество липидных перекисей задолго до ощутимого прогоркания в колбасных изделиях может быть столь велико, что, попадая с пищей в организм, они вызывают лавину свободно-радикальных цепных реакций в клетках человека и наносят здоровью огромный вред.

Тем не менее, «нитритно-консервантно-химический» способ получения фарша для изготовления колбасных изделий, предусматривающий обработку нитритами, химическими консервантами и фосфатами, является классическим и повсеместно используется на мясокомбинатах (Рогов И.А. и др. Общая технология мяса и мясопродуктов. М.: Колос, 2000).

С каждым годом увеличивается количество пищевых добавок и ассортимент продуктов питания их содержащих. На сегодняшний день их число составляет более 500. Рассмотрим самые распространенные виды пищевых добавок и разберемся, для чего они нужны.

Поговорим о *консервантах*. Это вещества, которые используют для предотвращения порчи продуктов, происходящей под воздействием микроорганизмов. Размножение бактерий можно временно задержать путем охлаждения или нагревания. Но с помощью консервантов это можно сделать намного эффективнее. При внесении консервантов продукты приобретают очень важные качества. Их можно перевозить на дальние расстояния, хранить и при этом точно знать, что они не испортятся. В домашних условиях в качестве консервантов используют соль, сахар, уксус, но они полностью меняют вкус продукта. Промышленные же консерванты практически не модифицируют вкус изделия.

Но в применении консервантов есть и минусы. Даже самые безопасные из них - бензойная и сорбиновая кислоты - обладают нежелательными свойствами. Сорбиновая кислота, например, может угнетать ферментные системы человеческого организма, а бензойная кислота плохо переносится маленькими детьми. Универсальных безопасных для человека консервантов, которые могли бы защитить мясопродукт от развития в нем бактерий, пока нет.

Существуют консерванты с широким спектром действия, например, соединения серы. Они угнетают рост плесневых грибов, дрожжей, аэробных и анаэробных бактерий. Поэтому их широко применяют в производстве продуктов, несмотря на откровенную токсичность. Считается, что человеческий организм хорошо справляется с расщеплением и выводом этих вредных веществ из организма. Но это если организм здоров и в нем нормально действуют системы очистки, т. е. печень и почки. А ведь по последним статистическим данным только 20 % людей можно назвать абсолютно здоровыми.

За последние десятилетия во многих странах мира внимание пищевиков привлечено к *антибиотикам*, как веществам, способным задержать порчу продуктов. Применяемые в незначительном количестве, они примерно вдвое увеличивают срок хранения продуктов. Это очень важно при транспортировке мяса или рыбы на дальние расстояния. Поэтому антибиотики также применяют в качестве консервантов, хотя их использование может привести к появлению устойчивости патогенных бактерий. Это, в свою очередь, может вызвать нежелательный побочный эффект у человека, употребляющего продукты с консервантами-антибиотиками. Кроме того, использование антибиотиков может вызывать нарушение необходимого соотношения микрофлоры в кишечнике человека и, соответственно, целый букет кишечных болезней, связанных с этим.

Следующая группа пищевых добавок, повсеместно используемых в пищевой промышленности - *антиоксиданты*. Они защищают продукты питания от химического разрушения, останавливая реакцию самоокисления продуктов. Если реакция окисления произошла, то продукт приобретает неприятный запах, привкус и является токсичным.

Большую группу добавок составляют вещества, влияющие на консистенцию продукта. К ним относятся *загустители*, *эмульгаторы* и *стабилизаторы*. Загустители бывают натуральные: желатин, крахмал, пектин, альгинатная кислота, агар, каррагин и полусинтетические: карбокси-метилцеллюлоза, модифицированные крахмалы. При использовании этих добавок возникает ряд гигиенических проблем.

Во-первых, эти вещества часто содержат вредные примеси, и их количество трудно проконтролировать. Во-вторых, все они являются неспецифическими сорбентами, т. е. способны впитывать всякие вещества, не зависимо от их полезности или вредности. Поэтому их употребление может нарушать всасывание минеральных веществ.

Среди эмульгаторов особенно небезопасны фосфаты, которые связывают воду и поэтому стабилизируют консистенцию. В колбасном производстве широко используют фосфат натрия (Е339) и пирофосфаты (Е450), потому что они увеличивают влагосвязывающую способность колбасного фарша. Чрезмерное использование фосфатов в продуктах питания может привести к нарушению баланса в организме между фосфором и кальцием. Чрезмерное употребление фосфатов чревато ухудшением усвоения кальция, что приводит к отложению в почках кальция и фосфора и способствует развитию остеопороза.

Одна и та же пищевая добавка зачастую используется с различными целями. Например, нитриты используют как фиксаторы цвета мясных изделий (стабилизируют красную окраску мяса, обусловленную красным цветом миоглобина и гемоглобина), а одновременно они являются консервантами и угнетают рост палочки ботулизма (Апраксина, 2005). Без нитрита колбасы, сосиски и ветчина были бы серого цвета.

Обычно производители используют одновременно несколько пищевых добавок.

Вот один из типичных примеров применения добавок в колбасном и сосисочном производстве.

Сырье:

- Свинина п/ж - 93%;
- Свинина жирная - 7%.

На 100 кг сырья используются следующие вспомогательные вещества:

- Соль - 2200 г;
- Нитрит натрия - 7,5 г;
- Фосфатный комплекс - 500 г;
- Кориандр молотый - 130 г;
- Перец белый (черный) молотый - 130 г;
- Чеснок свежий - 80 г.

Состав комплекса (Комбинация П2000 Арт. 103719):

E450a - Na-дифосфат

E471 - моно- и диглицериды пищевых жирных кислот

E575 - микрокапсулированная ГДЛ

E300 - L-аскорбиновая кислота

E301 - Na-L аскорбат

E621 - Na-глутамат

Кроме этого, в составе добавок присутствуют экстракты пряностей и высушенный сироп глюкозы.

Выход готового продукта 128%. Срок годности в натуральной оболочке при температуре 6°C составляет 10 суток.

Вот ещё пример: *Сардельки докторские*

Наименование сырья пряностей и материалов	Норма
Сырье несоленое, кг (на 100 кг несоленого сырья)	
Говядина жилованная 2 сорт	35
Свинина жилованная полужирная	21
Свинина жилованная жирная	20
Джастфайбер	1
Ветчина 100	1
Вода общая	53
Молоко сухое	2
Яичный порошок	2
Крахмал или мука пшеничная	3
Пряности и материалы, г (на 100 кг несоленого сырья)	
Соль поваренная пищевая	2300
Нитрит натрия	7,5

Добавка пищевая «Русская колбаса»	1200
Каррагинан 500	600
Консервант	215
Пищевой краситель кошенила (2/8)	?
Фосфаты пищевые	200

Рынок пищевых добавок

В России продается много отечественных и импортных пищевых добавок для мясопереработки. Это нитриты и их смеси, белковые смеси, фосфатные смеси, смеси натуральных пряностей, смеси водорастворимых пряностей, полифункциональные смеси, ароматизаторы, ускорители созревания и др.

На 1 тонну мяса «на выходе» часто получают 2 тонны колбасы, т.е. половина прибавки веса – это вода, соя и др. На 1 тонну мяса обычно тратится порядка 100 кг пищевых добавок (фосфаты, нитриты, ароматизаторы и др.). В стране ежегодно мясокомбинатами утилизируется около 500 000 тонн пищевых добавок! И вся эта химия идёт в организм потребителя. Причем, фактическая отмена ГОСТов и сторонней сертификации делает химию «королевой желудка».

Некоторые фирмы («Аромарос», «Интертехнология» и др.) торгуют также природными пищевыми добавками (лактат, глутамат и др.). Но применение этих добавок мясокомбинатами производится по слишком примитивной технологии и не обеспечивает хороших результатов. Большинство мясопродуктов содержит много опасных перекисей липидов (образующихся в результате несовершенства технологии мясопереработки), что ведет к прогорканию продукта и его порче, т.е. не обеспечиваются хорошее качество и сохранность. В значительной степени поступление в продажу некачественных продуктов обусловлено отсутствием на мясокомбинатах объективных методов контроля качества (все, что сейчас делают – это визуальный и обонятельный контроль, а также бак-посевы).

Рынок потребления мясопродуктов и, особенно, пищевых добавок, неуклонно растет. При этом в последние годы прослеживается небольшая тенденция к улучшению качества мясопродуктов для избранных групп населения. В перспективе следует ожидать увеличения потребительского спроса на качественные, экологически чистые, продукты. На рынке наблюдается тенденция к повышению запросов на качество мясных продуктов. Потребитель предпочитает покупать экологически чистую продукцию, а не «химию с соей». Предлагаемые нами методы контроля качества (в совокупности с новой технологией, см. далее) могут позволить удовлетворить такой спрос.

Колбасные изделия занимают четвертую позицию в шкале продуктов, пользующихся постоянным спросом россиян, уступая молочной продукции, овощам и фруктам, а также хлебобулочным изделиям. Российский рынок

колбасных изделий - один из самых быстро оборачиваемых рынков в российской пищевой промышленности.

В нашей стране в течение многих лет передовым исследовательским учреждением, занимающимся разработкой новых методов для мясоперерабатывающей промышленности, является Мясной Институт им. Горбатова, где ведутся исследования по технологии мясопереработки и методам контроля. Однако, к сожалению, до сих пор там не предложили новой – экологически чистой – технологии и новых – высокочувствительных и информативных – методов контроля. Там в основном совершенствуют старую технологию – с нитритами, фосфатами и прочей химией – и старые методы. Более того, некоторые сотрудники развивают концепцию о необходимости увеличения количества нитритов и прочей химии, мало заботясь о безопасности «химико-мясного» продукта для здоровья людей. Они считают, что если человек ест колбасу и не умирает сразу, значит, всё в порядке.

С одной стороны, мясокомбинаты не слишком заинтересованы в том, чтобы их продукция была совершенно безопасной для потребителя. И их не очень-то волнует дефицит современных объективных инструментальных методов контроля качества. Их интересует прежде всего экономическая выгода. А для этого им достаточно, прикрываясь фиктивными ГОСТами и техническими условиями (ТУ), сыпать в мясные изделия горы нитритов, фосфатов и прочих химических консервантов. В нашей стране сейчас до 70% колбасных изделий выпускается вообще не по ГОСТам, а по ТУ. Законодательство разрешает работать по самым разнообразным ТУ (не проходящим практически никакой сторонней объективной сертификации и контроля), чем и пользуются многие мясокомбинаты сверх меры.

Критерием правильности выбираемых пищевых добавок мясокомбинаты считают отсутствие заметной порчи (запаха, почернения, заплесневения) получаемого продукта, сохранение приятного цвета продукта и его хорошие вкусовые качества. Те же самые критерии используют покупатели продукции в магазинах. Поэтому производители, как правило, злоупотребляют специями, ароматизаторами, красителями и прочей химией, имитируя природный цвет и вкус. Выбор тех или иных пищевых добавок мясокомбинатами (а их продаются многие сотни, самых разных видов) достаточно произволен. Если нет порчи, то среди добавок, при прочих равных условиях, мясокомбинатами выбирается та, которая подешевле.

Нужно подчеркнуть, что критерием правильности выбранных пищевых добавок на мясокомбинатах должны быть не субъективные ощущения биотехнологов, а объективные инструментальные методы. Причем, они должны быть высокочувствительны и информативны. К сожалению, таких методов на мясокомбинатах почти нет. Они имеются только в НИИ мясной промышленности. Причем, методы, используемые в НИИ, как правило, не слишком чувствительны и мало информативны.

Нитриты, их полезные и вредные свойства

При засоле мясных изделий и посоле колбас применение нитрита угнетает развитие гнилостных и патогенных микроорганизмов, в частности – устраняется возможность смертельно опасного ботулизма. Помимо этого, нитриты подавляют перекисное окисление липидов, делают окраску продуктов приятно-розовой, а также придают продуктам особый аромат и вкус. Как оказалось, зачастую активен не сам нитрит, а окись азота (NO), образующаяся при его восстановлении.

Восстановление нитритов (в мясном сырье) в окись азота происходит самостоятельно при слабо кислой реакции среды или в результате взаимодействия с восстановителями, например, аскорбиновой кислотой и/или её солями, а также под действием ферментов денитрифицирующих бактерий.

Помимо положительного действия, нитрит натрия имеет побочные эффекты. Нитрит относится к весьма токсичным веществам. Смертельная доза составляет 14 - 16 мг на килограмм массы тела. При более низких концентрациях нитрит вызывает острую метгемоглобинемию, особенно у детей в раннем возрасте. Данное заболевание связано с неспособностью гемоглобина крови переносить кислород.

В сочетании с белками нитрит способен образовывать нитрозамины, которые являются причиной онкологических заболеваний (Groote, 2005). Нитрит натрия и нитрат натрия считаются ответственными за повышенную возбудимость нервной системы у детей. Нитриты в высокой концентрации могут привести к отравлению и даже смерти (Машанцева, Лаптев, 2006). Дело в том, что, поступая из кишечника в кровь, нитриты связываются с гемоглобином эритроцитов и не дают присоединяться кислороду. Это вызывает гипоксию (кислородное голодание) организма. Известны случаи тяжелого группового отравления колбасой, которая содержала высокие дозы нитрита натрия. Кроме того, нитриты уменьшают содержание витаминов в организме (Кудряшов, Баймишев, 2005).

Ещё раз уместно здесь напомнить, что смертельная разовая доза нитрита натрия для человека всего - 1 г. Как уже говорилось, за год человек в среднем получает примерно двойную дозу.

Считается, что от 60 до 90 % нитритов попадает в организм человека с овощами, и только остальные 40-10% - при употреблении мясопродуктов. Однако эти цифры скорее отражают содержание нитритов в овощах и мясопродуктах, а не попадание в организм, т.к. всасывание нитритов с мясными аминокислотами и пептидами в желудочно-кишечном тракте идёт гораздо сильнее, чем с овощной клетчаткой, поскольку целлюлоза (и т.п.) практически не всасывается. Это означает, что «мясные» нитриты гораздо опасней, чем «овощные».

В связи с существованием проблем, связанных с побочными эффектами нитрита, перед исследователями возникает задача либо найти им замену,

либо - снизить побочный эффект. Один из путей решения проблемы - создание эффективного продуцента фермента нитритредуктазы на основе штамма *Macrococcus caseolyticus*, который используется в производстве сухих ферментированных колбас, с применением методов генной инженерии. Применение эффективных денитрифицирующих микроорганизмов может позволить достичь низких остаточных концентраций нитритов даже в случае повышения вносимой концентрации нитрита натрия. Однако этот путь опасен побочными токсическими эффектами.

Международные стандарты на пищевые добавки

Международные стандарты на пищевые добавки и примеси определяются Объединенным комитетом экспертов Международной сельскохозяйственной организации (JECFA) и Кодексом Алиментариус (Codex Alimentarius), принятом Международной комиссией ФАО/ВОЗ и обязательным к исполнению странами, входящими в ВТО. Поскольку Россия нынче – тоже член ВТО, то ей неизбежно придётся «плясать под дудку» западных пищевых химических концернов и монополий. Особенностью Кодекса Алиментариус является то, что он не учитывает, как это ни странно, токсикологические особенности пищевых добавок.

Классификация по номерам

Для классификации пищевых добавок в странах Евросоюза разработана система нумерации (действует с 1953 года). Каждая добавка имеет уникальный номер, начинающийся с буквы «Е». Система нумерации была доработана и принята для международной классификации Кодекс Алиментариус. Вот, например, ряд веществ, разрешенных к применению:

Красители:

- 100—109 жёлтые
- 110—119 оранжевые
- 120—129 красные
- 130—139 синие и фиолетовые
- 140—149 зелёные
- 150—159 коричневые и чёрные

173 *Алюминий*

Консерванты:

- 200—209 сорбаты
- 210—219 бензоаты
- 220—229 сульфиты
- 230—239 фенолы и формиаты (метаноаты)

240—259 нитраты
260—269 ацетаты (этанойаты)
270—279 лактаты
280—289 пропиноаты (пропаноаты)

Антиокислителн:

300—305 аскорбаты (внтамн С)
306—309 токоферол (внтамн Е)
310—319 галлаты и эрнторбаты
320—329 лактаты
330—339 цнтраты
340—349 фосфаты
350—359 малаты и аднпаты (аднпнаты)
360—369 сукцннаты и фумараты

Стабнлнзаторы, загустнтелн, эмульгаторы:

400—409 альгннаты
410—419 камедн
430—439 селеннелн полннокснэнтлена
440—449 прнродные эмульгаторы
450—459 фосфаты
460—469 селеннелн целлюлозы
470—489 селеннелн жнрных кнслот
490—499 другие

Регуляторы pH и вешества протнв слёжнванн:

500—509 Неорганнческне кнслоты и основанн
510—519 хлорнды и сульфаты
520—529 сульфаты и гндрокснды
530—549 селеннелн щелочных металлов
550—559 снлнкаты
Е553b Тальк
570—579 стеараты и глюконаты

Уснлнтелн вкуса и аромата, ароматнзаторы:

620—629 глютаматы
630—639 ннозннаты

Антнбнотнкн:

710—713

900—909 воскн
910—919 глазнрователн
922 Пероксоднсульфат калнн

924 Бромат калия
 930 Пероксид кальция
 940 Дихлордифторметан
 942 Закись азота
 943 Бутан, Изобутан
 944 Пропан
 948 Кислород
 950—969 подсластители
 990—999 пенообразователи

Дополнительные вещества, в том числе антифламинги.

эмульгатор	E1000	Холевая кислота
эмульгатор	E1001	Холин, соли и эфиры
антиокислитель	E1102	Глюкозооксидаза
стабилизатор	E1103	Инвертаза
усилитель вкуса и аромата	E1104	Липаза
консервант	E1105	Лизоцим
наполнитель, стабилизатор, загуститель, влагоудерживающий агент, тексту-		
ратор	E1200	Полидекстроза А и N
загуститель, стабилизатор, осветлитель, диспергирующий агент E1201 Поли-		
винилпирролидон		
загуститель, стабилизатор, осветлитель, диспергирующий агент E1202 По-		
ливинилполипирролидон		
влагоудерживающий агент, глазирователь E1203 Поливиниловый спирт		
глазирователь, загуститель	E1204	Пуллулан
стабилизатор, загуститель, связующее E1400 Декстрины, крахмал, обрабо-		
танный термически, белый и желтый		
стабилизатор, загуститель, связующее E1401 Крахмал, обработанный кисло-		
той		
стабилизатор, загуститель, связующее E1402 Крахмал, обработанный щело-		
чью		
стабилизатор, загуститель, связующее E1403 Крахмал отбеленный		
эмульгатор, загуститель, связующее E1404 Окисленный крахмал		
стабилизатор, загуститель, связующее E1405 Крахмал, обработанный фер-		
ментными препаратами		
стабилизатор, загуститель, связующее E1410 Монокрахмалфосфат		
стабилизатор, загуститель	E1411	Дикрахмалглицерин «сшитый»
стабилизатор, загуститель, связующее E1412 Дикрахмалфосфат этерифици-		
рованный тринатрийметафосфатом; этерифицированный хлорокисью фос-		
фора		
стабилизатор, загуститель, связующее E1413 Фосфатированный дикрахмал-		
фосфат «сшитый»		
эмульгатор, загуститель E1414 Дикрахмалфосфат ацетилованный «сши-		
тый»		

стабилизатор, загуститель	E1420	Крахмал ацетатный, этерифициро- ванный уксусным ангидридом
эмульгатор, загуститель, связующее	E1441	Гидроксипропил крахмала глице- рин
стабилизатор, загуститель	E1443	Дикрахмалглицерин оксипропилиро- ванный
стабилизатор, глазирователь	E1452	Крахмала и алюминиевой соли октени- лянтраной кислоты эфир
	E1501	Бензилированный гидрокарбон
	E1502	Бутан-1, 3-диол
разделяющий агент	E1503	Касторовое масло
	E1504	Этилацетат
пенообразователь	E1505	Триэтилцитрат
	E1516	Моноацетат глицерина
влагоудерживающий агент, наполнитель	E1517	Диацетат глицерина (диацетин)
влагоудерживающий агент	E1518	Триацетин
наполнитель	E1519	Бензиловый спирт
влагоудерживающий, смягчающий и диспергирующий агент	E1520	Пропи- ленгликоль
	E1525	Гидроксиэтилцеллюлоза

Из выше приведённого перечня (далеко не полного!) ясно видно, какой разнообразной *химической начинкой* нафаршировываются продуктовые изделия, в частности – мясные. Многие из перечисленных веществ очень опасны для здоровья человека. Только профаны или жулики могут утверждать обратное.

Интересно, что ни лаборатория пищевой токсикологии Института питания РАМН, ни многочисленные лаборатории Российской Академии наук не участвуют в процедуре разрешения / запрета вредных для человека пищевых добавок. Они отстранены от этого. Все процедуры делаются в основном в рамках существующего специального международного механизма и по рекомендации JECFA — объединённого комитета по пищевым добавкам FAO/ВОЗ. Указанные организации являются по существу агентами пищевых магнатов, ангажированными ими для введения потребителей в заблуждение.

На территории России использование пищевых добавок контролируется национальными органами Роспотребнадзора и нормативными актами и санитарными правилами Минздрава России (в СССР первые такие правила вступили в силу с 1978 года). Но этот контроль носит формальный характер. В нём обычно не принимают участия высококвалифицированные специалисты – биотехнологии, биохимики, микробиологи.

Запрещённые добавки

Запрещённые добавки — это такие добавки, которые приносят огромный вред человеческому организму, причём, это зафиксировано *юридически*. Обычно это те добавки, которые некоторое время использовались, но затем, под давлением суровой медицинской статистики, были признаны источниками многих заболеваний. К сожалению, запрещенных добавок совсем не много:

E121 — Цитрусовый красный 2 (краситель)

E123 — Красный амарант (краситель)

E128 — Красный 2G (краситель)

E216 — Пара-гидроксibenзойной кислоты пропиловый эфир

E217 — Пара-гидроксibenзойной кислоты пропилового эфира натриевая соль

E240 — Формальдегид

Неразрешённые добавки

Неразрешённые добавки — это те добавки, которые не тестировались или проходят тестирование, но окончательного результата пока нет. Рано или поздно большинство из них окажется в пище на нашем столе:

E127 — Эритрозин

E154 — Коричневый FK

E173 — Алюминий

E180 — Рубиновый литол ВК

E388 — Тиопропионовая кислота

E389 — Дилаурилтиодипропионат

E424 — Курдлан

E512 — Хлорид олова

E537 — Гексацианоманганат железа

E557 — Силикат цинка

E912 — Эфиры монтаниновой кислоты

E914 — Окисленный полиэтиленовый воск

E916 — Кальция йодат

E917 — Калия йодат

E918 — Оксиды азота

E919 — Нитрозил хлорид

E922 — Персульфат калия

E923 — Персульфат аммония

E924b — Бромат кальция

E925 — Хлор

E926 — Диоксид хлора

Волосы на голове встают дыбом у любого не лысого биохимика от этого жуткого потенциально «пищевого» перечня! Так гробить здоровье людей всяческими ядами и боевыми отравляющими веществами! Это даже невозможно объяснить невежеством или халатностью. Это – планируемое уголовное преступление: сознательное отравление миллионов людей.

Опасность некоторых пищевых добавок

Пищевые добавки используются для улучшения стабильности и сохранности продуктов питания, для сохранения пищевой ценности продукта, для различных целей при производстве, обработке, упаковке и хранении. Однако определенные применяемые концентрации наносят вред здоровью, что не отрицается ни одним производителем.

Влияние любого химического вещества на организм человека зависит как от индивидуальных особенностей организма, так и от количества полученного вещества. Для каждой добавки, как правило, определяется допустимая суточная доза потребления (так называемая ДСП), превышение которой влечёт явные негативные последствия. Для некоторых веществ, применяемых в качестве пищевых добавок, такая доза составляет несколько миллиграмм на килограмм тела (например, Е250 — нитрит натрия), для других (например, Е951 — аспартам или Е330 — лимонная кислота) — десятые доли грамма на килограмм тела.

Некоторые добавляемые вещества обладают свойством кумулятивности, то есть способностью накапливаться в организме. Контроль за соблюдением норм содержания пищевых добавок в конечном продукте, как мы знаем, возложен на производителя. А производителя сейчас практически никто не контролирует.

Е250 (нитрит натрия) обычно применяют в колбасах, хотя нитрит натрия является общеядовитым токсичным веществом, в том числе и для млекопитающих: 50 процентов крыс погибают при дозе в 180 миллиграмм на килограмм веса. На практике его не запрещают, так как это «наименьшее зло», обеспечивающее товарный вид продукта и, следовательно, большой объём продаж (достаточно сравнить красный цвет магазинной колбасы с тёмно-коричневым цветом домашней колбасы). Для копчёных колбас высоких сортов норма содержания нитрита установлена выше, чем для варёных (считается, что их едят в меньших количествах).

Часть пищевых добавок, ранее считавшихся безвредными (например, формальдегид Е240 в шоколадных батончиках или Е121 в газированной воде), позднее были признаны слишком опасными и запрещены. Кроме того, добавки, безвредные для одного человека, могут оказать сильное вредное воздействие на другого. Поэтому врачи рекомендуют по возможности оградить от пищевых добавок детей, пожилых и аллергиков.

Некоторые производители в маркетинговых целях не указывают ингредиенты с буквенным кодом Е. Они заменяют их на название добавки, например, «глутамат натрия». Ряд производителей использует полную запись: и химическое наименование, и код Е. Но далеко не все производители указывает количество.

Использование кармина для окраски мясных изделий

Цвет - это основной показатель, влияющий на потребительские свойства мясных изделий. Как известно, потребитель «покупает глазами». Яркая красная окраска колбасных изделий, как правило, ассоциируется со свежими доброкачественными изделиями; бледная же окраска, наоборот, оказывает негативное влияние на выбор. Но если говорить о качестве и нетоксичности, то тут часто всё наоборот.

Одним из традиционных красителей, используемых при производстве мясных изделий, является ферментированный рис. Однако в последнее время на российском рынке снизилось качество поставляемого красителя и при использовании его в технологическом процессе он придает некрасивый сероватый оттенок на разрезе колбасных изделий. Эта ситуация привела, таким образом, к возникновению на рынке новых видов красителей. В основном они представляют собой смеси натуральных и синтетических красителей.

Поскольку вносимые ингредиенты, такие как крахмал, мука, белки соевые, мясное сырье с пороками качества PSE и DFD, а также сырье с большим содержанием жира и соединительной ткани снижают эффективность окраски готовой продукции, для создания красивого розового цвета колбасных изделий в последнее время всё большей популярностью пользуются натуральные красители, такие как кармин и кошениль. Кармин – производное тетраоксиантрахинона, его получают экстракцией из высушенных и растертых *насекомых* кошенили вида *Coccus Sactis*, обитающих на кактусах. Кошениль дает экстракт красного цвета, который используется для изготовления натурального красителя кармина. Хотя это краситель природный, но не ясно, насколько он токсичен для человека.

Во всем мире выбор натурального красителя для мясной промышленности очень часто останавливается на кармине. Данный краситель зарекомендовал себя как один из самых устойчивых: не проявляет заметной чувствительности к свету, окислению и температурной обработке. Кроме того, он придает естественный сочный оттенок колбасным и деликатесным изделиям. Кармин, представляющий собой темно красную текучую жидкость, растворим в воде, этиловом спирте и пропиленгликоле. Этот краситель может быть представлен как в сухой форме, так и в виде растворов различной концентрации. Как правило, в порошке содержится 40 – 60 % карминовой кислоты, в растворах 3 – 10 %. Кармин используется как при производстве сырокоп-

ченных / сыровяленых продуктов, так и при термической обработке колбасных изделий.

Кармин в водорастворимой форме - единственный натуральный краситель, использующийся для инъектирования вареных ветчин. Он также широко применяется для окраски оболочек в разные оттенки красного цвета (часто в сочетании с аннато). Этот краситель используется для достижения гарантированного цвета при производстве мясопродуктов; он даёт возможность регулировать степень окрашивания продуктов в соответствии с их типом и вкусами потребителя.

Сотрудниками ЗАО «Евро Ресурс» разработана технология использования 3 %-ного раствора кармина в мясных изделиях. Отработаны дозировки внесения красителя в вареные колбасы, сардельки, сосиски высшего и второго сортов. Дозировка красителя зависит от содержания жировой, мышечной ткани и растительных белков в сырье и может варьироваться от 3 до 8 г на 100 кг сырья. Гарантировать точную дозировку красителя возможно только в условиях постоянного качества основного сырья. Рекомендуемая дозировка для вареных колбасных изделий высших сортов составляет 6-8 г. Данное количество растворяют в 100 мл воды и вносят на первых этапах куттерования на стадии обработки мясного сырья. Для сарделек, колбас второго сорта (изделий, содержащих куриный фарш) рекомендуется увеличить дозировку красителя до 24 г.

Таблица. Сравнительная характеристика двух красителей - кармина (кошенили) и ферментированного риса.

	Кармин	Рис
Цвет колбас на разрезе:	Розовый	Может давать сероватый оттенок
Стойкость при хранении:	Отличная	Хорошая
Растворимость в воде:	Полная	Слаборастворимый в воде пигмент
Светостойкость:	++	+
Кислотостойкость:	+	+
Термостойкость	При 135°С окисляется, при 205° С разлагается	+
Стойкость при хранении:	++	+

В таблице приведен ряд физико-химических свойств, но, как обычно (почти у всех производителей), отсутствуют биологические, медицинские и токсикологические данные.

Для придания продукту улучшенного товарного вида также предлагают использовать аннато.

Плод аннато – коробочка в форме сердца, напоминающая буковый орешек, с околоплодником от красно-коричневого до фиолетового цвета, со множеством колких волосков, отпугивающих травоядных животных. Внутри коробочки содержатся шиповые семена, покрытые восковидной оранжево-красной массой. Их цвет зависит от нескольких апокаротиноидов, содержащихся в семенах, из которых самым важным является биксин.

С технологической точки зрения аннато является хорошим красителем для окраски оболочек как натуральной (черевы), так и белкозиновой, а также для придания поверхности копченостей стойкого яркого окрашивания.

Различные модификационные формы экстракта аннато предназначены для окрашивания деликатесных изделий (таких как шинка, мясные рулеты и др.) Применение натурального красителя аннато позволяет сократить время копчения; улучшает товарный вид готового продукта; изменение дозировки красителя позволяет варьировать цветовую гамму поверхности готовых копченостей от бледно-желтой до ярко-золотистой.

При этом биологические, медицинские и токсикологические свойства аннато нигде никем не были подробно изучены и опубликованы.

Низин и бизин



«БИЗИН 1000» - натуральный природный консервант, получаемый из молочнокислых бактерий. Это отечественный аналог известных импортных препаратов «Низаплин» (Англия) и «Кризин» (Дания).

Основной компонент препарата «БИЗИН 1000» - низин - представляет собой полипептид, продуцируемый штаммами молочнокислых бактерий *Lactococcus lactis*. Безвредность низина для живого организма и быстрое разрушение ферментами желудочно-кишечного тракта обусловили широкое применение его в пищевой промышленности в большинстве стран, включая страны ЕЭС и США.

Низин обладает статусом GRAS как безопасный продукт. Низин входит в список пищевых добавок, разрешенных к применению в пищевой промышленности в Российской Федерации.

Препарат «БИЗИН 1000» (разработчики проф. Ю.В. Боев и к.б.н. Л.П. Минаева) зарегистрирован в качестве пищевой добавки ВНИИСтандартом; он прошел экспертизу в Головном испытательном центре пищевой продукции при ГУ НИИ питания РАМН и получил положительное Санитарно-эпидемиологическое заключение Госсанэпиднадзора РФ.

Низин обладает тормозящим действием на определенные виды и роды грамположительных бактерий. Он не влияет на истинные грамотрицательные бактерии и не оказывает действия на дрожжевые клетки и плесневые грибы.

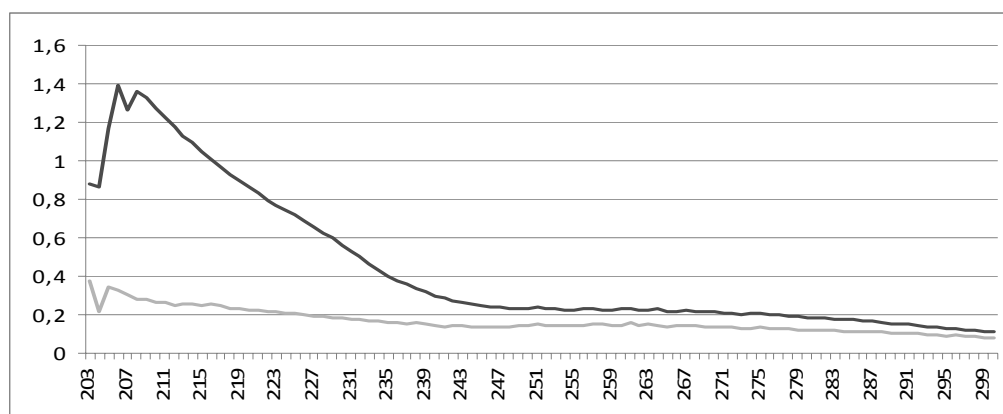
Четко выраженную чувствительность к низину имеют спорообразующие виды *Bacilli* и *Clostridia*, а также неспорообразующие *Lactobacilli*, *Streptococci*, *Micrococci*. При комбинации с другими консервантами низин подавляет рост грамотрицательных бактерий, в частности *Listeria*.

Низин может ингибировать избыточный рост всех бактериальных спор, которые вызывают порчу пищевых продуктов, подвергнутых тепловой обработке. Это особенно важно для продуктов, хранящихся в помещениях с повышенными температурами. Бактериальные споры, подвергнутые воздействию тепла, особо чувствительны к низину, поэтому эффективность применения консерванта повышается в сочетании с умеренной тепловой обработкой (пастеризацией). Устойчивость низина к кислой среде позволяет проводить тепловую обработку продуктов без значительной потери активности консерванта.

«БИЗИН 1000» является эффективным консервантом плавленого сыра и продуктов из плавленого сыра. Добавление препарата в количестве 100-250 мг/кг увеличивает срок хранения сыра до 6 месяцев. Кроме того, он применяется для сохранности молока и консервированных грибов и овощей.

В настоящее время в нашей лаборатории ведутся исследования по применению низина в различных пищевых мясoproдуктах для продления сроков их хранения.

Ниже приведён спектр УФ поглощения низинового экстракта из бизина:



Изобретения и патенты по обработке мяса

В отношении природных (не химических, не слишком искусственных) составов для обработки мяса давно известны, например, такие основополагающие авторские свидетельства и патенты.

"Способ хранения мяса" (Курбангалиев Я.М. и др., заявка 2000104972/13 от 29.02.2000, МКИ7А23В4/023); здесь для хранения мяса в качестве добавки использовалась смесь поваренной соли с лимонной кислотой и последующая заливка мяса растопленным жиром.

"Состав для покрытия мяса и мясных продуктов" (Дибирасулаев М.А. и др., патент № 1614167 5А23В4/10, заявка от 29.12.1988); здесь использовался консервант на основе сорбиновой кислоты вместе со смесью калиевых и натриевых солей пальмитиновой и стеариновой кислот.

"Способ хранения охлажденного мяса" (Каухчешвили Э.И. и др., заявка 2548726/28-13 от 29.11.1977, А23В4/06); здесь для удаления кислорода из мяса была использована насыщающая концентрация углекислого газа.

"Способ хранения мяса" (Смольский Т.Н. и др., заявка 2081186/13 от 04.12.1974, А23В4/14); здесь для обескислороживания мяса был использован аммиак.

Для хранения мясопродуктов известен "Пленкообразующий состав для покрытия пищевых продуктов на основе сахароглицерина" (Кафиев Н.М. и др., заявка № 93021008/13 от 22.04.1993; 6А23В4/10); здесь использовался состав из сахароглицерина, хлористого кальция и моноглицеридов.

Особый интерес представляет КОМПОЗИЦИЯ УНИВЕРСАЛЬНОЙ МНОГОФУНКЦИОНАЛЬНОЙ ПИЩЕВОЙ ДОБАВКИ ДЛЯ ИНЪЕЦИРОВАНИЯ ДЕЛИКАТЕСНЫХ ЦЕЛЬНОМЫШЕЧНЫХ МЯСОПРОДУКТОВ ИЛИ СУБПРОДУКТОВ (ООО "Аромарос-М", авторы Андреенков В.А.; Алехина Л.В.; Санатова И.В.; Самченко Г.Н.; Алексеев Ю.Н.). Изобретение относится к мясной промышленности, в частности к созданию пищевых добавок для инъектирования деликатесных цельномышечных продуктов или субпродуктов из оленины, конины, говядины, цельномышечных продуктов из свинины и птицы. Композиция пищевой добавки для инъектирования содержит в качестве консерванта аскорбиновую кислоту, калий лимоннокислый, лимонную кислоту, натрий уксуснокислый и эритробат натрия. Полупродукт растворяют в горячей воде из расчета 3 кг воды на 1 кг консерванта путем тщательного его перемешивания, затем - фильтрацией полученного раствора и дальнейшей распылительной сушкой раствора полупродукта. Дополнительно добавка содержит сухую смесь компонентов, суммарный показатель рН которой составляет 7,8-7,9, включающей крахмал пищевой модифицированный, глутамат натрия, фосфат пищевой, соль поваренную пищевую, глюкозу, каррагинан, эфирные масла и олеорезины пряно-ароматических растений.

В мясной промышленности широко используют различные композиции пищевых добавок в составе рассола для инъектирования деликатесных

цельномышечных продуктов из различных видов мяса и субпродуктов. Так традиционно (см. Сборник рецептов мясных изделий и колбас. Сост. К.П.Юхневич, Санкт-Петербург, Гидрометеиздат, 1998, с.69) при производстве деликатесных цельномышечных мясопродуктов, например говядины копчено-запеченной, сырье шприцуют рассолом плотностью 1,079 г/см³ в количестве 8-12% от массы сырья. Состав рассола: вода 100 л, соль поваренная пищевая 12,3 кг, сахар 1,5 кг, нитрит натрия 0,1 кг. Нашприцованное сырье натирают сухой посолочной смесью из 61% соли, 7,3% черного молотого перца и 31,7% измельченного чеснока в количестве 4,1% к массе сырья, а затем направляют мясо на созревание.

Для производства деликатесных цельномышечных продуктов из говядины, баранины, конины и оленины и субпродуктов из них (см. там же с. 64-97) используют рассол того же состава компонентов, но варьируют количественный состав в зависимости от вида сырья и технологии производства изделия. Допускают применение аскорбината натрия в количестве 0,05% от массы сырья (его закладывают в конце первого массирования) или аскорбиновой кислоты. В качестве пряностей часто используют перец черный и душистый, орех мускатный и кориандр или заменяют их соответствующими экстрактами.

К недостаткам указанных пищевых добавок следует отнести то, что они не проявляют влагоудерживающих и солублизирующих свойств, а органолептические и потребительские показатели готового продукта остаются невысокими.

Известна композиция молочного рассола для шприцевания при производстве буженины и карбоната (SU 544418, кл. А 23 L 1/318, 30.01.1977). В состав рассола на 100 л обезжиренного молока входит соль поваренная пищевая в количестве 20-22 кг, сахар-песок - 300 г, маринад из воды в количестве 5 л, содержащий 100 г настоя перца душистого и 100 г перца черного. При этом шприцевание осуществляют молочным рассолом в количестве 10-20% к массе сырья. После этого мясное сырье массируют в течение 15 мин, а после 5 мин массирования сырье заливают смесью из перца красного в количестве 1000 г, чеснока свежего измельченного - 1200 г, соли поваренной - 600 г и 6 л плазмы крови или обезжиренного молока. Таким образом, для шприцевания и для введения при массировании требуется составление двух композиций пищевых добавок, что с точки зрения сырьевых и трудовых затрат является не экономичным. Кроме того, композиции этих пищевых добавок не удлиняют сроки хранения изделий.

Известна композиция маринада для инъектирования копченых цельномышечных продуктов мяса из птицы (патент US 4411922 А, кл. А 23 В 4/02, 4/14, 25.10.1983). Она содержит нитрит натрия, хлорид натрия, буферный агент - триполифосфат натрия, агент для стабилизации нитрита натрия - натрий эритробат или аскорбиновую кислоту. Цельномышечное мясо индейки, птицы или цыпленка инъектируют раствором вышеуказанного маринада в количестве от 8 до 15% от веса мяса. Однако для увеличения сроков годно-

сти эти продукты подвергают заморозке; органолептические и потребительские показатели такой продукции не высоки.

Известна композиция пищевой добавки для инъектирования кусковой говядины и свинины с получением цельномышечных сырокопченых деликатесных изделий типа балыка, филея, бескостной грудинки (патент RU 2171064 C1, кл. А 23 L 1/31, 27.07.2001). В состав рассола для шприцевания, кроме бактериального препарата на основе молочнокислых микроорганизмов и посолочных веществ, входит водно-спиртовой настой типа бальзама с содержанием этилового спирта от 35 до 45%, приготовленный на индивидуальных травах, настое базилика или зизифоры либо их композиции, в количестве от 0,15 до 0,5% к массе мясного сырья. Подготовленное мясное сырье инъектируют рассолом в количестве 6-10% к массе сырья.

Вышеуказанные добавки улучшают технологические и органолептические свойства продукта, но, однако, не улучшают структуры и не увеличивают стойкость продукта в процессе хранения. Поэтому создание универсальной многофункциональной пищевой добавки, которая в едином составе компонентов подходит для производства широкого ассортимента деликатесных цельномышечных продуктов из различных видов мяса, а также различных субпродуктов, при этом сочетает в себе оптимальные технологические, органолептические, структурно-реологические свойства и относительно длительные сроки хранения, является актуальной и экономически важной задачей современного производства мясных продуктов.

Эта задача решается, например, тем, что композиция универсальной многофункциональной пищевой добавки для инъектирования деликатесных цельномышечных продуктов или субпродуктов из оленины, конины, говядины, цельномышечных продуктов из свинины и птицы, согласно изобретению, содержит в качестве консерванта аскорбиновую кислоту, калий лимоннокислый, лимонную кислоту, натрий уксуснокислый и эриторбат натрия, который получен путем просеивания и измельчения каждого из ингредиентов, последующего их смешивания и получения полупродукта, затем растворения полупродукта в горячей воде из расчета 3 кг воды на 1 кг консерванта путем тщательного его перемешивания, затем фильтрацией полученного раствора и дальнейшей распылительной сушкой раствора полупродукта. Дополнительно добавка содержит сухую смесь компонентов, суммарный показатель рН которой составляет 7,8-7,9, включающей крахмал пищевой модифицированный, глутамат натрия, фосфат пищевой, соль поваренную пищевую, глюкозу, каррагинан и эфирные масла и олеорезины пряно-ароматических растений при следующем соотношении компонентов в мас. %:

Аскорбиновая кислота - 3-5
Лимонная кислота - 0,3-2
Калий лимоннокислый - 1-4
Натрий уксуснокислый - 4-10

Эриторбат натрия - 0,5-2,5
Глутамат натрия - 1,5-4
Каррагинан - 6-10
Соль поваренная пищевая - 0,5-1
Крахмал пищевой модифицированный - 0,01-0,5
Глюкоза - 20-40
Эфирные масла и олеорезины пряно-ароматических растений - 0,3-1
Фосфат пищевой - остальное

Причем, добавку вводят в количестве 4,5-5,5 кг на 100 л рассола для инъектирования.

Дополнительно консервант может содержать сорбиновую кислоту в количестве 0,3-1 мас.%. Также добавка может дополнительно содержать пищевой эмульгатор: дистиллированные моно- и диглицериды жирных кислот.

Оптимально подобранный качественный и количественный состав комплексной пищевой добавки представляет собой сложную многокомпонентную смесь специально подобранных вкусовых, ароматических и функциональных ингредиентов.

Наличие в добавке эфирных масел и олеорезинов пряно-ароматических растений при инъектировании обеспечивает равномерное распределение их вкуса и аромата по всему продукту.

Натуральные ароматические вещества, содержащиеся в эфирных маслах и олеорезинах, придают готовым мясным изделиям высокое качество и приятный вкус, способствуют восстановлению аромата мяса, утрачиваемого им в процессе хранения, а также маскируют (вот именно – маскируют!) неприятные запахи, возникающие вследствие развития нежелательной микрофлоры и образования продуктов метаболизма анаэробных микроорганизмов.

Композиция пищевой добавки может содержать любые эфирные масла и олеорезины пряно-ароматических растений. При этом эфирные масла и олеорезины получают как из целых пряно-ароматических растений, так и из различных ботанических частей этих растений. В качестве источников эфирных масел и олеорезинов используют разнообразные пряно-ароматические растения, например, кардамон, мускатный орех, мацис, кориандр, чеснок, лимон, черный перец, белый перец, красный перец, корицу, паприку, гвоздику, имбирь, чили, тмин, карри, зиру, сельдерей, тимьян, реган, куркуму, шафран, майоран, базилик, петрушку, укроп, лавровый лист, шалфей, барбарис и т.д.

Глутамат натрия является одним из наиболее распространенных усилителем вкуса мясных продуктов. Введение глюкозы также влияет на вкусовые ощущения, смягчая соленый вкус. Органические кислоты и их соли кроме консервирующих свойств отвечают за цветообразование и цветостабильность.

Каррагинан в сочетании с модифицированным крахмалом и фосфатом пищевым способствует образованию стабильной желеобразной и солюби-

зированной системы внутри мясопродукта, а также обеспечивает прекрасные влагоудерживающие свойства на протяжении всего процесса термообработки продукта.

Преимущества таких сложных, но устойчивых солублизированных систем заключаются и в том, что они не только не влияют отрицательно на вкус мясопродукта, а напротив, деликатесные изделия приобретают выраженный вкус и аромат, стабильный и интенсивный цвет от розового до темно-красного в зависимости от вида сырья, а также плотную консистенцию. При этом плотная консистенция получается за счет того, что введение указанной дозы "иммобилизованного" консерванта позволяет ввести достаточное количество загустителей в сухой форме, таких как каррагинан и крахмал пищевой модифицированный. Все эти новые свойства пищевой добавки в целом обеспечивают готовому изделию благополучие с микробиологической точки зрения и относительно длительные сроки хранения.

Применение данной пищевой добавки позволяет интенсифицировать и оптимизировать технологический процесс производства деликатесных мясопродуктов и субпродуктов за счет того, что упрощается этап приготовления рассолов для инъектирования, поскольку в композицию добавки вводят все необходимые ингредиенты - не только традиционные, но и жиро- и влагосвязывающие, цветообразующие и цветостабилизирующие агенты, структуро-регулирующие и структуростабилизирующие, вкусоароматические компоненты, усилители вкуса и аромата, консерванты и др.

Сроки годности и реализации изделий из оленины, конины, говядины, из свинины и птицы деликатесных варено-копченых, копчено-вареных, копчено-запеченных и запеченных, изготовленных с универсальной многофункциональной пищевой добавкой для инъектирования фирмы "Аромарос-М", с момента окончания технологического процесса составляют:

- упакованных в полиэтиленовую пленку или другие аналогичные пленки - не более 12 суток;
- в том числе на предприятии-изготовителе - не более 4 суток;
- упакованных под вакуумом - не более 30 суток;
- в том числе на предприятии-изготовителе - не более 10 суток.

При этом сроки хранения продукции, приобретенной потребителем, составляют 20-25 суток, а в вакуумной упаковке - 30-45 суток.

Известны также изобретения и патенты, в которых нитриты сами по себе не использовались (но содержались в добавляемой зелени). Например, КОЛБАСКИ БЕЛЫЕ МЮНХЕНСКИЕ (Федосеев А.В.). Здесь содержатся в добавляемой петрушке, которая, как известно, имеет высокое их содержание. Этот современный способ является российским аналогом давно известного в Германии способа производства колбасок с использованием сельдерея, содержащего нитриты. Недостатком колбасок является быстрая порча; слишком мал срок хранения – до 48 часов (при 4°C). Процесс изготовления таких колбасок требует высокой оперативности: не более нескольких часов, причем, используется только свежая свинина или (и) телятина. Кроме того, в со-

временный состав таких колбасок входят, помимо прочего, ди-фосфаты и термически окисленное соевое масло, которые не безопасны для здоровья.

Современные пищевые биодобавки

Известны примеры добавления к обычной посолочной смеси (содержащей нитриты и фосфаты) различных природных метаболитов, в частности, таких солей ди- и трикарбоновых кислот как аскорбинат и цитрат, что обеспечивает более быстрое и равномерное образование цвета и его сохранение в течение длительного времени (Эндел Кармас. Технология колбасных изделий. М., Лег.-пищ.пром., 1981). Кроме того, в случае вареных мясопродуктов применяют обработку консервантами типа «Аромарос-М», состоящими из пищевых кислот и их солей (Боравский В.А. Энциклопедия по переработке мяса. М.: Солон-пресс, 2002, с. 259-260).

Недостатком перечисленных способов является получение довольно быстро портящегося и главное - недостаточно качественного целевого продукта, содержащего изрядное количество нитритов, химических консервантов и фосфатов, а также перекисей липидов, представляющих в совокупности реальную опасность для здоровья потребителя.

В последнее время интерес к биодобавкам заметно повысился. Например, в ВНИИ мясной промышленности им. Горбатова (материалы см. на сайте <http://www.vniimp.ru>) были разработаны наномикроэмульсии, включающие в себя аминокислоты, витамины и полисахариды. Однако в их состав были включены также искусственные (небиологические) компоненты – альгинат натрия и гуаровая камедь.

В МГУ Прикладной биотехнологии был разработан бактериальный препарат «Лактомикс», предложенный вместо искусственных антиоксидантов.

В МГУ Инженерной экологии был разработан «Бизин-1000», содержащий природный полипептид низин, используемый для антибактериальной обработки.

Во ВНИИ Пищевой биотехнологии были разработаны биодобавки, содержащие аминокислоты, витамины, а также биодобавки на основе молочной кислоты и комплексов метаболитов пропионовокислых бактерий.

В статье «Комплексные пищевые добавки в производстве колбасных изделий» (А.Верещагин, «Мясные технологии», 2005, № 7, с. 22-24) приводятся примеры современных комплексных добавок: загустителей, гидроколлоидов, эмульгаторов и др. Например, пищевая добавка «Активин-1» состоит в основном из биологических фракций, полученных из животного и растительного сырья.

К сожалению, перечисленные разработки носят пока в основном поисковый характер и, что самое главное, решают только небольшую часть проблем изготовления качественных колбасных изделий, не позволяя уйти от применения химических консервантов, в частности – нитритов и нитратов.

Путь к безнитритной технологии

Как известно, концентрация растворенного кислорода в клетках и кровеносных капиллярах составляет примерно 250 мкМ (при нормальном атмосферном давлении). Чтобы убрать такое количество кислорода, достаточно ввести 250–500 мкМ дикарбоновой кислоты или NADH. При комнатной температуре процесс удаления внутриклеточного кислорода занимает всего несколько минут. Антикислородный буфер облегчает этот процесс. В частности, при замене фосфатного буфера на гидрокарбонатный количество перекисей липидов существенно уменьшается, что отслеживается по уменьшению концентрации малонового диальдегида (см. таблицу, ниже).

Если заменить нитриты и искусственные консерванты на ряд природных протекторных веществ, метаболитов, комплексонов и антиоксидантов, то колбасное изделие будет безвредно для организма человека. Проникновение в получаемый продукт опасных микроорганизмов и их размножение в нём можно предотвратить специальными антимикробными олигопептидами, действующими в малой концентрации и разлагающимися в желудочно-кишечном тракте до всасывания пищи, то есть - безопасными для человека.

В нашей лаборатории был опробован ряд природных “консервантов”, антимикробных олигопептидов, хелаторов кальция и железа, антиоксидантов (токоферол, каротин, ретинол, убихинон и др.), а для обработки оболочек мясopодуkтов были протестированы ряд грамицидинов и актиномицинов.

Оказалось, что оптимальным раствором для приготовления и хранения фарша является такой, в котором, помимо прочего, содержится антикислородный буфер и ряд дикарбоновых кислот, но в котором мало фосфатов. В таком составе можно не использовать нитриты или, по крайней мере, можно резко уменьшить их количество.

Выяснилось, что наиболее вредным агентом, блокирующим митохондриальное дыхание и резко активирующим образование перекисей, является щавелево-уксусная кислота (таблица).

Другим вредным в этом же отношении веществом является избыточный глутамат. В частности, количество перекисей липидов в присутствии 5 мМ глутамата заметно возрастает (таблица). Это вызывает сомнения в правильности широкого использования больших количеств глутамата в качестве усилителя вкуса в пищевой промышленности.

Таблица. Содержание перекисей липидов, определяемое по малоновому диальдегиду (МДА) в свежеприготовленном мышечном гомогенате, в зависимости от вида рН-буфера и разных добавок, взятых в миллимолярных концентрациях.

Гомогенат:	МДА (%)
в 100 мМ фосфатном буфере	100
+ 5 мМ сукцината	30
+ 5 мМ глутамата	140
+ 5 мМ аскорбата	90
+ 1 мМ оксалоацетата	180
в 100 мМ гидрокарбонатном буфере	60

Примечания: Инкубация гомогената с добавками – 10 минут при 20 °С. МДА измерен с помощью ТБК-теста (при 532 нм в 1-см кюветах на Спекорд UV-Vis в отсеке для мутных образцов). Приведены округленные значения.

Кроме того, было установлено, что необходимо изменить последовательность операций в технологической схеме получения качественного фарша. Был найден оптимальный вариант приготовления фарша, в котором замедлены процессы его порчи.

Добавление специй (чеснок и др.) и жирного сырья (шпика) нужно проводить только после завершения первой стадии куттерования, ни в коем случае не раньше (во многих ТУ добавление этих компонентов производится слишком рано – см. например, технологию изготовления полукопченой колбасы “Городская” первого сорта, ТУ 10.02.01 114-89).

Транспорт и метаболизм ди-, три-карбоновых кислот тесно связан с транспортом внутриклеточного кальция. Ди-, трикарбоновые кислоты активируют энергизованную закачку кальция и железа в митохондрии и влияют на резервную емкость митохондрий и саркоплазматического ретикулума в их отношении. Причиной этого является то, что эти вещества содержат две-три СОО-группы, способные хелатировать ионы кальция и железа. Однако одновременное добавление кальция или железа и ди-, трикарбоновых кислот к фаршу сопровождается двумя неприятными вещами: активацией перекисного окисления липидов и частичным выпадением комплекса металла с ди-, трикарбоновыми кислотами в осадок (в результате – неэффективность добавки, увеличение мутности и др.).

В последние годы на Западе ионы кальция используются в качестве природного консерванта для хранения ряда молочных продуктов. По-видимому, кальций можно во многих случаях использовать в небольших концентрациях и для мясных продуктов. Но его нельзя применять одновременно с ди- и трикарбоновыми кислотами и гидрокарбонатом, то есть применение должно быть разнесено по этапам во времени.

Разработка комплексных пищевых биодобавок (КПБД)

Комплексные пищевые биодобавки (КПБД), разработанные коллективом научных сотрудников ИБК РАН под руководством автора данной монографии, состоят исключительно из природных биохимических веществ (ди- / трикарбоновых кислот, анти-кислородных реагентов, антиоксидантов, хелаторов, протекторов, пептидов и белков, подобранных в оптимальных соотношениях), абсолютно безвредных для организма человека. Они предназначены для резкого улучшения качества колбасных изделий и других мясопродуктов, а также для существенного удлинения сроков их хранения, без применения каких-либо искусственных химических консервантов, в частности – нитритов и нитратов. КПБД позволяют получить долго хранящийся качественный целевой продукт, безопасный для здоровья человека.

Применение КПБД основано на "Способе изготовления безнитритных колбасных изделий" (Векшин Н.Л., 2007. патент РФ № 2311047), в котором впервые была продемонстрирована возможность изготовления колбасных изделий с длительным сроком хранения без нитритов, фосфатов и прочей «химии». В то время (в 2005 году, когда была подана заявка), состав разрабатываемых пищевых биодобавок ещё не был оптимальным, вещества брались в высоких концентрациях и, кроме того, сами биодобавки не подлежали хранению, т.е. должны были приготавливаться и использоваться в день применения. Поэтому изобретение не могло быть внедрено в масштабном промышленном производстве. За прошедшие годы удалось изготовить принципиально новые много-композиционные комплексные биодобавки, которые лишены указанных существенных недостатков.

По сравнению с другими пищевыми добавками, КПБД имеют следующие важные преимущества: а) отказ от опасных нитритов, химических консервантов и фосфатов; б) отсутствие накопления вредных перекисей; в) предотвращение микробного обсеменения; г) существенное удлинение сроков хранения; д) улучшение вкусовых качеств; е) медико-биологическая безопасность.

Все вещества в КПБД являются природными; причем, они в той или иной степени присущи организму человека. Большинство из этих веществ уже использовались по отдельности в пищевой промышленности или медицине.

Природные ди- / трикарбоновые кислоты в умеренных концентрациях являются абсолютно безвредными и нетоксичными. Их окисление в дыхательной цепи митохондрий и в цикле Кребса сопровождается быстрым потреблением кислорода из клеточной цитоплазмы. Как уже говорилось, концентрация кислорода в клетках и кровеносных капиллярах составляет примерно 250 мкМ. Чтобы удалить такое количество кислорода, достаточно ввести 250 - 500 мкМ дикарбоновой кислоты или NADH. При комнатной температуре процесс удаления внутриклеточного кислорода занимает всего несколько минут. Анти-кислородный буфер (например, гидрокарбонат) облег-

чает этот процесс. Введение природных антиоксидантов предотвращает порчу липидов. А природные стабилизаторы и протекторы обеспечивают высокую межмолекулярную вязкость, препятствующую порче.

Поскольку транспорт и метаболизм ди- / трикарбоновых кислот тесно связан с транспортом внутриклеточного кальция, то использование добавок кальция (в сочетании с заранее введенными ди- / трикарбоновыми кислотами, в разные по времени сроки обработки фарша), а также замена фосфатного буфера на гидрокарбонатный (вытесняющий кислород за счет высвобождения углекислого газа) позволяет проводить безнитритную консервацию продуктов и делают возможным изготовление качественных экологически чистых колбасных изделий.

Некоторые ди- / трикарбоновые кислоты (такие как лимонная, аскорбиновая, глутаминовая и др.) уже применяются, как известно, в ряде отраслей пищевой промышленности для придания пище специальных вкусовых качеств и в некоторой степени - для консервирования. Однако они пока не нашли адекватного применения на важнейших этапах мясопереработки.

Вытеснение кислорода из тканей в наших опытах производилось с помощью гидрокарбоната, высвобождающего из себя в растворе углекислый газ. Путем замены фосфатного буфера на гидрокарбонатный удалось резко уменьшить количество перекисей и продлить сохранность фарша. Применение ионов кальция на фоне (одновременно) сукцината и гидрокарбоната оказалось неэффективным. Вероятной причиной этого является образование малорастворимого в воде комплекса между кальцием и указанными веществами. Раздельное же применение указанных веществ на разных стадиях получения фарша позволяет достигнуть нужного результата.

Некоторые природные "консерванты", антимикробные протекторы, хелаторы кальция и железа, антиоксиданты (токоферол, каротин, ретинол, ряд убихинонов и др.) позволяют в лабораторных условиях при температуре 6 градусов продлить сохранность мясного фарша до 1 месяца! Но, к сожалению, не все они могут быть предложены для использования в реальных производственных условиях, поскольку одни из них слишком дорогостоящи, другие не совместимы с определенными компонентами пищевых добавок, а третьи слишком биохимически активны и могут сохранить эту высокую активность в полученном колбасном изделии, что не безопасно для здоровья человека.

Для обработки оболочек мясопродуктов, в принципе, можно применять природные антибиотики из ряда грамицидинов и актиномицинов. В низких (микромольных) концентрациях они для организма человека безопасны. Более того, они подавляют рост опухолевых клеток и даже могут увеличивать среднюю продолжительность жизни (это было ранее показано в опытах на животных). Механизм действия актиномицинов на ДНК и олигонуклеотиды был изучен нами ранее (Vekshin N. et al. // J. Phys. Chem.:B, 2001, v.105, 8461-8467; Савинцев И. В., Векшин Н. Л. // Мол.биол., 2002, т. 36, 725-730;

Векшин Н.Л., Савинцев И.В. // Прикл. биохимия и микробиол., 2004, т. 40, 421-428) в рамках грантов CRDF (RB2-2031) и NATO-Linkage.

Применение ряда веществ, входящих в состав КПБД, снижает автолиз фарша (измерено по мутности при 540 нм), уменьшает денатурацию белков (измерено по триптофановой флуоресценции при 340 нм), уменьшает повреждение мембран (измерено по снижению митохондриальной NADH-оксидазной активности), резко снижает содержание перекисей липидов (определено с помощью ТБК-теста по количеству малонового диальдегида - МДА). При замене фосфатного буфера на анти-кислородный гидрокарбонатный буфер количество перекисей липидов уменьшается на 40% (Векшин Н.Л. // Мясные технологии, 2005, № 7, с-3-6).

КПБД используется в ходе приготовления мясного фарша и позволяет осуществить полное удаление внеклеточного и внутриклеточного кислорода, устранить высвободившиеся из ткани ионы кальция и железа, подавить перекисное окисление липидов, а также предотвратить проникновение бактерий. Причем, КПБД позволяет фаршу иметь стабильную приятную красную окраску.

В отличие от обычно применяющихся пищевых добавок, содержащих ряд химических консервантов, небезопасных для здоровья человека, КПБД состоит исключительно из природных биохимических веществ, безвредных для организма человека. Причём, они используются в очень низких концентрациях, что позволяет говорить об их абсолютной безопасности. Например, в КПБД использованы небольшие количества солей ди- и трикарбоновых кислот: кетоглутарат, цитрат, изоцитрат, пируват, сукцинат и др., которые максимально стимулируют в фарше митохондриальное потребление кислорода, активируют цикл Кребса, подавляют перекисное окисление липидов, а также хелатируют свободные ионы кальция и железа.

Разработка была поддержана грантами РФФИ-офи и СТАРТ, а также стала победителем Конкурса Русских Инноваций в 2007 году. Она была удостоенная десятка медалей на выставках в Москве. В 2009 году были получены медаль и свидетельство конкурса «Экологически безопасная продукция».



В настоящее время обобщенная КПБД представляет собой композиционную смесь примерно такого состава (доля компонентов может варьировать, в зависимости от используемого мясного сырья, вида колбасного изделия и т.д.): пируват, кетоглутарат, малат, цитрат, изоцитрат, сукцинат, аскорбат, глутамат, лактат, фумарат, гидрокарбонат, кверцетин, дигидрокверцетин, кофеин, бизин, кармин, желатин, миоглобин, гемоглобин, убихинон, имидазол, целлюлоза, коллаген, кальций хлористый, поваренная соль и др.

Лабораторное испытание двух КПБД

КПБД № 3

В состав этой биодобавки входят, в частности, поваренная соль «Экстра» (содержит противослеживающую добавку Е-536), поваренная соль крупного помола (без добавок), кофеин, имидазол, гистидин, дигидрокверцетин, кверцетин, низин (препарат «Бизин»), цитрат (лимоннокислый натрий), кармин и другие природные вещества.

Желательный красный цвет свежего мяса быстро ухудшается во время хранения под влиянием света, вакуумирования, охлаждения или замораживания. Химическими изменениями, ответственными за такое обесцвечивание, являются редокс-реакции миоглобина и другие кислород-зависимые реакции. Американский учёный В.Г. Tarladgis (патент США № 3360381 от 26 декабря 1967 г патентовладелец — фирма «Lever Brothers Company») обнаружил, что обработка свежего мяса некоторыми электрон-донорными веществами, например органическими гетероциклическими соединениями, содержащими азот, способствует сохранению хорошего красного цвета мяса. Донорами электронов могут являться органические соединения, предпочтительно гетероциклические, содержащие азот: пурин, пиримидин, имидазол, пиазин, триазин и аналогичные кольцевые системы, а также их производные. В качестве оптимальных рекомендуются такие природные соединения, как пурины, пирамидины, имидазолы и их производные.

Имидазол используется как противогрибковое вещество и антиоксидант. Имидазольное ядро входит в состав таких важных для человека веществ, как азотистые основания, витамины, ферменты, аминокислоты.

Гистидин используется для поддержания pH. Также он является аналогом имидазола.

Дигидрокверцетин является антиоксидантом растительного происхождения. Его получают из подкоркового слоя лиственницы. Антиоксиданты имеют избыток свободных электронов, которые связываются со свободными радикалами и блокируют цепную реакцию. Дигидрокверцетин считается одним из самых сильных антиоксидантов, работающих на уровне клеточных мембран. По молекулярному строению и функциям он близок к кверцетину.

Цитрат натрия применяется в пищевой промышленности как регулятор кислотности, комплексообразователь, диспергирующий агент, буферное и вкусовое вещество.

Кармин — один из самых устойчивых природных красителей; он не проявляет заметной чувствительности к свету, окислению и температурной обработке.

Кофеин используется для более эффективного проникновения всех компонентов биодобавки в фарш. Он является веществом натурального происхождения. В сутки допускается норма кофеина до 100 мг. В колбасном же изделии его содержание при использовании КПБД № 3 не будет превышать 5 мг на 1 кг.

Соль необходима для изолирования компонентов биодобавки, чтобы они не взаимодействовали между собой и не образовывали коагулятов. Кроме того, соль сама по себе является консервантом.

Важно подчеркнуть, что все компоненты этой биодобавки безопасны для здоровья человека.

КПБД № 4

В состав этой биодобавки входят, в частности, поваренная соль «Экстра» (содержит противослеживающую добавку Е-536), грамидин, имидазол, актиномицин Д и другие природные вещества.

Актиномицин, входящий в состав биодобавки, относится к природным гетероциклическим антибиотикам олигопептидной природы. Этот антибиотик используется как противоопухолевое средство в медицине.

Грамицидин относится к природным пептидным антибиотикам.

Важно заметить, что этой биодобавкой обрабатывается не фарш, а оболочка. Так что попасть в организм человека антибиотики, входящие в состав биодобавки практически не могут. Но даже, если это произойдет, то - в следовых количествах, которые не опасны для здоровья человека. Кроме того, актиномицин и особенно грамицидин расщепляются в кишечнике человека.

Эффективность комплексных пищевых биодобавок

Некоторые лабораторные результаты по КПБД-3 и КПБД-4 представлены в таблицах.

В частности, из первой таблицы следует, что наиболее эффективной среди трёх вариантов КПБД № 3 является та (как это ни удивительно), в которую не добавляли соль. Фарш с биодобавкой без поваренной соли хранится в холодильнике при 7°C больше двух недель. Также из таблицы видно, что биодобавка, содержащая поваренную соль (с противослеживающей добавкой Е-536) менее эффективна, чем биодобавка с хлоридом натрия, в котором отсутствуют посторонние примеси.

Из второй таблицы видно, например, что колбасные оболочки лучше сохраняются в среде с КПБД № 4, чем в 150 мМ хлориде натрия. Из этого эксперимента следует, что с этой биодобавкой колбасная оболочка хранится при комнатной температуре почти неделю, в то время как в хлориде натрия начинает протухать уже на третьи сутки.

Таблица. Влияние КПБД № 3 на горяжий фарш.

Параметры	БД № 3 без поваренной соли	БД № 3 с поваренной солью	БД № 3 с хлоридом натрия
Цвет фарша	Красный	Розовый	Темно-красный
Запах	Нет	Нет	Нет
pH	7	5	7
Вязкость	Очень высокая	Средняя	Высокая
Консистенция	Однородная	Однородная	Однородная
<i>Первые сутки</i>			
Цвет	Красный	Розово-бурый	Темно-красный
Запах	Нет	нет	Нет
pH	7	5	7
Вязкость	Очень высокая	Средняя	Высокая
Консистенция	Однородная	Однородная	Однородная
<i>Вторые сутки</i>			
Цвет	Красный	Буроватый	Темно-красный
Запах	Нет	нет	нет
pH	7	6	7
Вязкость	Очень высокая	Средняя	Высокая
Консистенция	Однородная	Однородная	Однородная
<i>Третьи сутки</i>			
Цвет	Красный	Буроватый	Темно-красный
Запах	Нет	нет	Нет
pH	7	5	7
Вязкость	Очень высокая	Средняя	Высокая
Консистенция	Однородная	Однородная	Однородная
<i>Четвертые сутки</i>			
Цвет	Красный	Бурый	Темно-красный
Запах	Нет	нет	нет
pH	7	5	7
Вязкость	Очень высокая	Средняя	Высокая
Консистенция	Однородная	Однородная	Однородная
<i>Пятые сутки</i>			
Цвет	Красный	Бурый	Темно-красный
Запах	Нет	нет	нет
pH	7	5	7

<i>Вязкость</i>	Очень высокая	Средняя	Высокая
<i>Консистенция</i>	Однородная	Однородная	Однородная
<i>Шестые сутки</i>			
<i>Цвет</i>	Красный	Бурый	Темно-красный
<i>Запах</i>	Нет	нет	нет
<i>pH</i>	7	5,5	7
<i>Вязкость</i>	Очень высокая	Средняя	Высокая
<i>Консистенция</i>	Однородная	Однородная	Однородная
<i>Седьмые сутки</i>			
<i>Цвет</i>	Красный	Бурый	Светло-красный
<i>Запах</i>	Нет	появился	нет
<i>pH</i>	7	5	7
<i>Вязкость</i>	Очень высокая	Средняя	Высокая
<i>Консистенция</i>	Однородная	Однородная	Однородная
<i>Восьмые сутки</i>			
<i>Цвет</i>	Красный	Бурый	Светло-красный
<i>Запах</i>	Нет	усилился	нет
<i>pH</i>	7	5	7
<i>Вязкость</i>	Очень высокая	Средняя	Высокая
<i>Консистенция</i>	Однородная	Однородная	Однородная
<i>Девятые сутки</i>			
<i>Цвет</i>	Красный	Бурый	Светло-красный
<i>Запах</i>	Нет	усилился	нет
<i>pH</i>	7	5	7
<i>Вязкость</i>	Очень высокая	Слабая	Высокая
<i>Консистенция</i>	Однородная	Однородная	Однородная
<i>Одиннадцатые сутки</i>			
<i>Цвет</i>	Красный	Бурый	Светло-красный
<i>Запах</i>	Нет	усилился	нет
<i>pH</i>	7	5	7
<i>Вязкость</i>	Очень высокая	Слабая	Высокая
<i>Консистенция</i>	Однородная	Однородная	Однородная
<i>Двенадцатые сутки</i>			
<i>Цвет</i>	Красный	Бурый	Светло-красный
<i>Запах</i>	Нет	Тухлый	нет
<i>pH</i>	6	5	7
<i>Вязкость</i>	Очень высокая	Слабая	Высокая
<i>Консистенция</i>	Однородная	Однородная	Однородная
<i>Тринадцатые сутки</i>			
<i>Цвет</i>	Красный	Бурый	Светло-красный
<i>Запах</i>	Нет	Тухлый	нет
<i>pH</i>	6	5	7
<i>Вязкость</i>	Очень высокая	Слабая	Высокая

Консистенция	Однородная	Однородная	Однородная
<i>Четырнадцатые сутки</i>			
Цвет	Красный	Бурый	Светло-красный
Запах	Нет	Тухлый	нет
pH	6	5	7
Вязкость	Очень высокая	Слабая	Высокая
Консистенция	Однородная	Однородная	Однородная

Биодобавка № 3 используется в ходе куттерования фарша. В принципе, ее можно применять также на фоне стандартных добавок – нитритов, фосфатов, солей, специй и т. д. Вещества, входящие в биодобавку № 3, являются природными метаболитами. Эта биодобавка защищает гем-белки, вызывает возврат миолобина и гемоглобина из мет-формы в окси-форму и дезокси-форму, помогает сохранять фаршу красновато-розовую окраску.

Биодобавка № 4 используется в ходе обработки оболочек, только для оболочек. Ее применяют в смеси с обычно используемыми жидкостями (вода, соль, антисептики и др.). Она предотвращает обсеменение фарша микробами со стороны оболочки мясoproдукта.

Таблица. Эффективность влияния КПБД № 4 на колбасные оболочки

Параметры	150 мМ хлорид натрия	КПБД № 4
<i>Первые сутки</i>		
Запах	Нет	нет
РН	5	5
Мутность	Нет	нет
<i>Вторые сутки</i>		
Запах	Нет	нет
РН	5	5
Мутность	Слабая	Нет
<i>Третьи сутки</i>		
Запах	Появился	Нет
РН	5	5
Мутность	Высокая	Слабая
<i>Четвертые сутки</i>		
Запах	Тухлый	Нет
РН	5	5
Мутность	Очень высокая	Слабая
<i>Пятые сутки</i>		
Запах	Тухлый	Нет
РН	5	5
Мутность	Очень высокая	Высокая
<i>Шестые сутки</i>		

<i>Запах</i>	Тухлый	Слабый
<i>РН</i>	5	5
<i>Мутность</i>	Очень высокая	Очень высокая

Технология безнитритной мясопереработки

Технология экологически-чистой безнитритной мясопереработки заключается в специальных условиях применения четырех КПБД (№1, 2, 3 и 4) в ходе обработки мяса, фарша и оболочек колбасных изделий. Технология направлена на уход от нитритов и прочей «химии», на существенное улучшение качества колбасных изделий и удлинение сроков их хранения. Она реализуется за счет полного удаления внутриклеточного кислорода и устранения свободных ионов кальция и железа в процессе получения фарша. В результате резко снижаются перекисное окисление липидов, автолиз, денатурация белков, повреждение мембран и т.д.

Для получения качественного колбасного фарша нужно использовать природные метаболиты: субстраты клеточного дыхания (ди- / и трикарбоновые кислоты и др.), кислород-вытесняющий буфер, антиоксиданты и олигопептидные протекторы.

Оптимальными биодобавками для приготовления и хранения колбасного фарша являются такие, в которых, помимо прочего, содержатся гидрокарбонат (в миллимолярной концентрации) и ряд дикарбоновых кислот, но в котором мало или нет фосфатов. В таком составе можно не использовать нитриты или, по крайней мере, можно резко уменьшить их количество.

Было найдено, что одним из оптимальных вариантов приготовления фарша (в котором замедлены процессы его порчи) для полукопченой безнитритной колбасы является следующий. Мясо следует поместить в охлажденный рН-буфер, содержащий в строго определенной пропорции кислород-вытесняющий буфер, ряд ди-/ трикарбоновых кислот, поваренную соль и др. После того, как мясо пропитается этим раствором, можно произвести промывание. Интенсивное куттерование фарша нужно начинать только после 10-минутной инкубации фарша в указанной среде. Такая процедура необходима для удаления внутриклеточного кислорода. Добавление специй (чеснок и др.) нужно проводить только после завершения первого куттирования, ни в коем случае не раньше. Колбасная оболочка должна быть обработана снаружи специальным биологическим протектором.

Новая технология обеспечивает существенное улучшение качества мясных продуктов и удлиняет сроки их хранения. Она осуществляется, в частности, путем замены нитритов и искусственных консервантов на ряд солей природных метаболитов - ди- и трикарбоновых кислот, безвредных для организма человека. Среди солей ди- / трикарбоновых кислот выбраны такие (сукцинат, цитрат, изоцитрат, альфа-кетоглутарат, аскорбат), которые максимально стимулируют митохондриальное потребление кислорода, активи-

руют цикл Кребса, подавляют перекисное окисление липидов, хелатируют свободные ионы кальция и железа.

Разработанный подход включает обработку промалываемого мяса указанными метаболитами, а также природными антиоксидантами (токоферол, убихинон) при определенных соотношениях, после чего осуществляют куттерование при добавлении свежеприготовленного раствора гидрокарбоната, вытесняющего кислород, а затем вводят аскорбиновую кислоту и лимонную кислоту. Проникновение в получаемый продукт опасных микроорганизмов и их размножение предотвращается (помимо кислого pH, отсутствия кислорода и присутствия метаболитов) обработкой поверхности продукта или оболочек олиго-пептидными протекторами, действующими в очень малых (микромольных) концентрациях и способными разлагаться в желудочно-кишечном тракте, до всасывания пищи.

По органолептическим показателям (цвету, запаху и вкусу) колбасный фарш, получаемый по нашей технологии, ничем не уступает традиционным. При этом по объективным показателям он содержит в 2-3 раза меньше перекисей липидов, денатурированных белков и др.

Колбаса, произведенная с применением даже одного вида КПБД (по неполной технологии) не отличалась по цвету, запаху и вкусу. При этом она, в отличие от обычной колбасы, не была обсеменена микроорганизмами. Испытания, проведенные на мясокомбинате на трех сортах колбас, показали, что обычная колбаса начала портиться уже на третий день, а колбаса, изготовленная с КПБД, хранилась не менее 30-40 дней (имеются копии протоколов бактериологических анализов).

Новый технологический процесс не потребует каких-либо коренных изменений в работе колбасных цехов, не требуется закупка нового оборудования, не нужен новый персонал или новые площади. Но нужно обеспечить строгое выполнение технологии, причем, только на парном или замороженном мясе. Подпорченное и протухшее мясо для разработанной технологии не пригодно. И это будет ставить блок на недобросовестных производителей.

С учетом известной общепринятой нитритной технологии (ТУ 10.02.01 114-89), в нашей лаборатории ранее была предложена новая рецептура изготовления полукопченой безнитритной колбасы. Разрабатываемая технология была проверена на Вятском мясокомбинате на нескольких сортах колбасы, в частности - "Городская, 1-й сорт". С помощью микробиологических посевов, выполненных в Департаменте госсанэпиднадзора в Центре санэпиднадзора в Вятско-Полянском районе Кировской области, было установлено, что предложенная технология действительно позволяет устранить обсеменение колбас различными опасными бактериями, что существенно удлиняет срок хранения. Для сравнения: колбаса "Туймада", полученная по старой технологии, не только оказалась обсемененной, но даже заплесневела при хранении (имеются протоколы бак-анализов).

Работа была поддержана грантом РФФИ-офи-а 04-04-08146 и удостоена золотых медалей с дипломами на выставках «Высокие технологии 21-го

века» (2006) и «Архимед» (2006). Разработка стала победителем конкурса «Бизнес инновационных технологий» (2006) и Конкурса русских инноваций (2007). Работа была поддержана также грантом «СТАРТ» (2008).

В настоящее время внедрением технологии на мясокомбинатах занимается ООО «Фотон век» (Пушино). Сейчас к производству подготовлен комплект из четырех комплексных пищевых биодобавок. Одним из преимуществ этих биодобавок является то, что они могут быть изготовлены из дешевого отечественного сырья. Затраты мясокомбинатов на разработанные нами комплексные пищевые добавки будут составлять ничтожную часть (не более 1-3 %) от стоимости выпускаемой продукции. Применение наших комплексных пищевых добавок позволит сократить применение нитритов, фосфатов и прочих вредных для здоровья человека химических веществ. Это позволит сделать продукцию мясокомбинатов экологически чистой, более востребованной.

Испытание КПБД и новой технологии на производстве

Нитриты, химические консерванты и фосфаты в предлагаемом способе вообще не используются. Промол свежего или замороженного мяса производят в раствор, содержащий соли ди- и трикарбоновых кислот (сукцинат, кетоглутарат и цитрат в концентрации 0,1 – 10 г/л), стимулирующих митохондриальное потребление кислорода мышечными клетками, а также поддерживающими нейтральный pH. Для более полного исчерпания кислорода при дальнейшем куттеровании применяется анти-кислородный буфер: 1-10 г/л гидрокарбоната натрия, способного выделять углекислый газ, вытесняющего собой кислород. Кроме того, добавляются природные антиоксиданты – токоферол и убихинон - в концентрации 1-100 мг/л. На заключительной стадии в фарш для дополнительного предохранения от порчи добавляют 1-10 г/л аскорбиновой кислоты, способствующей сохранению восстановленного миоглобина, что создает фаршу красно-розовую окраску, а также добавляют 1-10 г/л лимонной кислоты, создающей более кислый pH. Оболочки мясopодукта обрабатывают раствором, содержащим природный протектор олигопептидной природы (0,1-10 мг/л грамицидина и актиномицина), легко гидролизуемый в желудке человека, но перед этим защищающий полученные изделия от бактериального заражения извне.

Пример:

Приготовление полукопченой колбасы 1-го сорта из подмороженного мяса.

1) Приготовить 12 литров водного раствора, содержащего: поваренную соль – 1,4 кг, сукцинат натрия – 50 г, кетоглутарат натрия – 10 г и цитрат натрия – 5 г. С помощью гидрата окиси натрия довести pH раствора до 7,0 - 7,5. Охлаждать раствор до 3-4°C.

- 2) Говядину жилованную 2-го сорта 40 кг и свинину жилованную полужирную 55 кг подморозить до температуры минус 1-5°C в толще куска (при температуре воздуха минус 7-9°C).
- 3) Говядину измельчить на блокорезке и сразу начать ее промол в 6 литров вышеуказанного охлажденного раствора, дополнительно добавляя по ходу промола гидрат окиси натрия (при перемешивании) в таком количестве, чтобы рН получаемого говяжьего фарша ни в коем случае не опускался ниже 6,0.
- 4) Заложить говяжий фарш в куттер и добавить туда 0,3 кг поваренной соли и 95 г гидрокарбоната натрия. Куттеровать 3-4 минуты до получения фаршевого «зерна» размером 3-4 мм.
- 5) Свинину измельчить на блокорезке и сразу промолоть (отдельно от говядины) в другие 6 литров охлажденного раствора. В первые минуты после начала промола добавить в волчок (при тщательном перемешивании) к измельченному свиному фаршу, находящемуся в растворе, 2 г токоферола и 1 г убихинона.
- 6) Заложить полученный свиной фарш во второй куттер и добавить туда 0,7 кг поваренной соли и 95 г гидрокарбоната натрия. Куттеровать 2-3 минуты до получения фаршевого «зерна» размером 5-8 мм.
- 7) Охладить говяжий и свиной фарши до 1-3°C. После этого – смешать их вместе и добавить специи: чеснок свежий 250 г, сахар 100 г, перец черный 100 г, мускатный орех 50 г, кориандр 25 г, сухое молоко 5 кг. Куттеровать 1-2 минуты при температуре 1-3°C.
- 8) В конце куттерования добавить 50 г аскорбиновой кислоты и 10 г лимонной кислоты, проверяя чтобы конечный рН фарша был не выше 5,4; в противном случае добавить еще лимонной кислоты.
- 10) Далее - обычное наполнение оболочек фаршем (диаметр оболочек 50-55 мм; оболочку наполнять плотно).
- 11) Затем - обычная термообработка (осадка при 4°C в течение 24 часов; подсушка при 60°C в течение 20 минут; обжарка при 85°C в течение 75 минут до характерного цвета; варка при 76°C в течение 25 минут; охлаждение воздухом при 20°C в течение 3 часов; копчение при 40°C до 12 часов; сушка при 11°C и влажности воздуха 74% в течение 24 часов до приобретения упругой консистенции и массовой доли влаги не выше 55%).
- 12) Полученные изделия следует обработать (обрызгать) со стороны оболочек водным раствором, содержащим олиго-пептидный протектор, а именно: грамицидин (0,5 мг/л) и актиномицин (1 мг/л). Готовые изделия подсушить и затем складировать на холоду.

При получении колбасных изделий предлагаемым способом автолиз снижается в 1,5 -2 раза, денатурация и гидролиз белков уменьшаются в 2-3 раза, на половину уменьшается повреждение мембран, а содержание перекисей липидов снижается в 3-4 раза.

Предложенный способ в разных вариантах был использован для изготовления полукопченой колбасы. Изготовленная колбаса имела красно-розовый цвет, плотную и упругую консистенцию, традиционный вкус, без посторонних привкусов. Изделия были отправлены на хранение. Органолептическая оценка продукции (Табл.) на 30-й день хранения (без упаковки, при температуре 6 °С) показала, что поверхность изделий сухая, чистая; вкус традиционный, без замечаний.

Таблица. Органолептические свойства безнитритной колбасы на 30-й день хранения.

Поверхность	Цвет	Консистенция	Вкус
сухая, чистая	красно-розовый	плотная, упругая	традиционный

Микробиологические испытания в Центре санэпиднадзора в Вятско-Полянском районе Кировской области трех сортов колбас («Городская», «Русская студенческая» и «Туймада») подтвердили, что колбаса, изготовленная и обработанная по новой технологии при хранении даже свыше месяца отвечает всем требованиям по микробиологическим показателям, в то время как колбаса, изготовленная по старой технологии (ТУ 10.02.01 114-89), оказалась обсемененной и заплесневела при хранении. Один из протоколов бак-анализов приводится ниже:

ПРОТОКОЛ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ КОЛБАСНЫХ ИЗДЕЛИЙ И ПРОДУКТОВ ИЗ МЯСА											
№ п/п	Наименование образца	КМАФАнМ КОЕ/г		БГКП /коли-формы/		S. aureus		Сульфитредуцирующие клостридии		Патогенные м/о, в т.ч. сальмонеллы	
		Результат исследования	Доп. уровень. Не более	Результат исследования	Масса в г. в кот. Не допускается	Результат исследования	Масса в г. в кот. Не допускается	Результат исследования	Масса в г. в кот. Не допускается	Результат исследования	Масса в г. в кот. Не допускается
	Пробы от 11.02.04.										
	Русская студенческая	21-10 ³ 21-10 ³ 21-10 ³	10 ³	В 1.0 не Обн.	В 1.0 не Доп.	В 1.0 не Обн.	В 1.0 не Доп.	В 0.01 не обн.	В 0.01 не доп.	В 25.0 не обн.	В 25.0 не обн.
	Туймада обработ. протектором	—	—	В 1.0 не Обн.	В 1.0 не Доп.	В 1.0 не Обн.	В 1.0 не Доп.	В 0.01 не обн.	В 0.01 не доп.	В 25.0 не обн.	В 25.0 не обн.
	Туймада не обработ. протектором	—	—	В 1.0 Обн.	В 1.0 не Доп.	В 1.0 не Обн.	В 1.0 не Доп.	В 0.01 не обн.	В 0.01 не доп.	В 25.0 не обн.	В 25.0 не обн.
	Туймада не обработ. протект.			В 1.0 не Обн.	В 1.0 не Доп.	В 1.0 не Обн.	В 1.0 не Доп.	В 0.01 не обн.	В 0.01 не доп.	В 25.0 не обн.	В 25.0 не обн.

Анализ проводил

Р.И.И.

16.03.04.

Заключение: пробы отвечают требованиям СанПин 2.3.2.1078-01 по предельным микробиологическим показателям.

Например, на Микояновском мясокомбинате (Москва) пробная КПБД была испытана на сардельках. Опытные образцы по микробиологическим показателям были в норме. По органолептическим показателям опытные (с КПБД) и контрольные (с нитритом, без КПБД) образцы полностью соответствовали данному виду продукта в течение 5 дней. По цвету, вкусу и запаху изменений до 14 дня хранения ни в опыте, ни в контроле не было. На 15-день в опытных пробах сарделек количество бактерий КоЕ / г в опытных образцах осталось низким, а в контроле выросло в 1000 раз. Это означает, что опытные образцы, в отличие от контрольных, могут храниться гораздо лучше. Если полученные сардельки сварить и положить в холодильник при 6° С, то через 6 дней сардельки с КПБД по консистенции, запаху и поверхности неотличимы от контрольных. По цвету контрольные светлей (бледно-роз.), а опытные ярче (роз.). Причем, по вкусу опытные гораздо вкусней: у контрольных - "вкус бумаги", у а опытных (с КПБД) - "мясной". Оказалось также, что до варки объем (и вес) у опытных сарделек на 10-15 % больше, чем у контрольных, а после варки - еще больше: на 20-25%. Это связано с тем, что сардельки с КПБД гораздо лучше связывают и удерживают воду, чем контрольные, т.е. весовой "выход" сарделек заметно повышается. Для производства это должно быть экономически очень выгодно.

Один из вариантов КПБД был испытан на фарше из семги и форели (на ОАО «РОК-1» в Санкт-Петербурге). Срок хранения фарша возрос до 42 дней.

ОАО «РЫБООБРАБАТЫВАЮЩИЙ КОМБИНАТ № 1»

Испытательная производственно-технологическая лаборатория
Аттестат аккредитации
№ SP01.01.073.159 до 01 ноября 2010 г.
Лицензия ГСЭН 1.09.027 от 04 марта 2003 г.

ПРОТОКОЛ (эксперимент)
от «05» июня 2009 г.

Наименование предприятия изготовителя: ОАО «Рыбообрабатывающий комбинат № 1»
Адрес предприятия изготовителя: СПб, Угольная гавань, Элеваторная пл., д 16, к 7
Наименование продукции: Рыба горячего копчения
НД на отбор проб: ГОСТ 26668-85, дата отбора проб: 01.06.09.
ФИО, должность отобравшего: Кунилова Е.С..
Цель исследования: соответствие СанПиН 2.3.2.1078-01

№ п/п	Наименование образца, дата изготовления, масса нетто	Объем пробы, г	Регистрационный № в журнале	КМАФАнМ, не более 1×10^4 КОЕ/г	БГКП (колиформы) не допускается в 0,1 г	S. aureus не допускается в 1,0 г	Сульфитредуцир. клостридии не допускаются в 0,1 г (в упак. под вакуумом)	Патогенные, в т.ч. сальмонеллы и L. monocytogenes не допускается в 25 г
1	Рулет г/к из форели, ЗА (всклши – 0,15%) Хранение: при + 6° С 42 сут Д.в. 17.04.09г	300	202/з	$8,6 \times 10^3$	Не обнаружены	Не обнаружен	Не обнаружены	Не обнаружены
2	Рулет г/к из форели, ЗА (всклши – 0,2%) Хранение: при + 6° С 42 сут Д.в. 17.04.09г	300	201/з	$7,7 \times 10^3$	Не обнаружены	Не обнаружен	Не обнаружены	Не обнаружены
ИДна метод исследования				ГОСТ 10444.15-94	ГОСТ Р 52816-2007	ГОСТ 10444.2-94	ГОСТ 29185-91	ГОСТ Р 52814-2007 МУК 4.2.1123-02 ГОСТ Р 51921-02

Заключение: продукция соответствует требованиям СанПиН 2.3.2.1078-01

Начальник лаборатории _____ Н.П.Федотова Микробиолог _____ Е.С. Кунилова

Нами также были разработаны четыре КПБД, которые могут быть использованы по отдельности или вместе, в зависимости от необходимости.

Недавно четыре КПБД были испытаны в цехе ООО «Второе дыхание» (Санкт-Петербург) на говяжьих сардельках и вареной колбасе. Не смотря на некоторые технические недочеты проведения самих испытаний (КПБД была применена не полностью, куттер не давал вакуумирования, температура в цехе была 17 градусов), тем не менее, были получены положительные результаты.

ОТЧЕТ О ПРОВЕДЕНИИ ВЫРАБОТКИ ПРОДУКЦИИ БЕЗ ДОБАВЛЕНИЯ НИТРИТА НАТРИЯ

- 18 июня 2012 в колбасном цехе ООО «Второе дыхание» была осуществлена выработка следующего вида продукции: сардельки «Говяжьи» без добавления нитрита натрия.
- Был проведен один опыт с использованием добавок №1, №2, №3. Добавка №4 для обработки оболочки не использовалась, т.к. продукцию изготовили в полиамидной оболочке, которая позволяет хранить изделия до 15 суток.
- Общее количество фарша 27 кг. Добавка №1 – 80 г, добавка №2 -40 г, добавка №3 – 126 г (необходимо на данный замес 160 г).
- Результат органолептической оценки: внешний вид – окруженные цилиндрические батончики длиной 7-10 см, цвет – розовый, запах – приятный, вид на разрезе – незначительная пористость, однородная структура, вкрапления специй, консистенция – упругая, вкус – приятный, без постороннего привкуса.
- В результате проведения дегустации данный продукт получил оценку «4».

Таким образом, предлагаемое изобретение позволяет улучшить потребительские качества целевых продуктов и существенно удлинит сроки хранения при полном отказе от добавления нитритов, химических консервантов и фосфатов. Продукция мясокомбинатов при использовании этих КПБД может стать экологически чистой и безопасной.

Методы контроля качества фарша на мясокомбинатах

Одна из основных проблем современной мясопереработки заключается в том, что до сих пор, как ни странно, в пищевой биотехнологии практически отсутствуют надёжные объективные инструментальные критерии, количественно характеризующие сохранность мяса и фарша, да и вообще очень мало чувствительных методов (Антипова Л.В. и др. Методы исследования мяса и мясных продуктов. М.: Колос, 2004), гарантирующих безопасность колбасных изделий для потребителя.

В Институте мясомолочной промышленности принято определять содержание белка, жира, рН, количество свободных аминокислот, электрофоретическую подвижность белков и перевариваемость белков протеолитическими ферментами (Тропина Г.Н., канд. дисс., 1988). Кроме того, определяют содержание влаги (Салаватулина Р.М. и др., Мясная индустрия СССР, 1983, N 9, 26-27). К сожалению, эти методы малочувствительны и малоинформативны в отношении качества фарша и мясoproдуктов *в начале* порчи.

Поэтому на большинстве мясокомбинатов контроль качества обычно осуществляется "дедовскими методами": органолептически, визуально, обонятельно и с помощью бак-посевов (Боравский В.А. Энциклопедия по переработке мяса. М.: Солон-пресс, 2002).

В настоящее время в мясоперерабатывающей промышленности существует потребность в объективных высокочувствительных методах контроля качества продукции (Журавская Н.К. и др. Технохимический контроль производства мяса и мясопродуктов. М.: Колос, 2001; Рогов И.А. и др. Общая технология мяса и мясопродуктов. М.: Колос, 2000). Кроме того, не разработана теоретическая база для прогнозирования сроков хранения фаршей и продуктов.

Поступление на мясокомбинаты сырья разной сохранности (например, замороженной говядины) и многочасовое хранение фарша после промывки мяса требуют всестороннего комплексного контроля качества. В принципе, как таковые (на уровне лабораторных исследований), методы существуют. Они позволяют измерять вязкость, содержание влаги, белка, жира, фосфора, количество свободных аминокислот, электрофоретическую подвижность белков и перевариваемость белков протеолитическими ферментами. К сожалению, эти методы трудоемки, сложны, а главное - не слишком чувствительны, особенно в отношении ранних стадий повреждения и порчи тканей.

Весьма перспективно использование методов хроматографического анализа, обладающего высокой чувствительностью и точностью (Хвыля, 1994), но, к сожалению, они требуют значительной траты времени.

Имеющиеся инструментальные методы требуют дорогостоящего прецизионного оборудования и на сегодняшний день недостаточно адаптированы для таких сложных многокомпонентных систем, как мясо и фарш, особенно для начальных стадий их порчи.

Каждый конкретный тип мясного сырья, вообще говоря, должен иметь индивидуальный набор показателей качества. Состояние продукта должно описываться комплексом химических, биохимических, физико-химических, гистологических и других характеристик.

Корреляцию между инструментальными и органолептическими показателями изучают для того, чтобы обосновать применение того или иного несенсорного метода для характеристики цвета, вкуса, запаха или консистенции продукта (Антипова и др., 2004).

Органолептический метод исследования

Органолептическая (сенсорная) оценка, проводимая с помощью органов чувств человека, – наиболее древний и широко распространенный способ определения качества пищевых продуктов, осуществляемый при непосредственном участии дегустаторов.

Этим методом устанавливают соответствие основных качественных показателей (вкус, запах, консистенция, окраска и внешний вид) изделий требованиям стандарта (Журавская и др., 1985).

Органолептические свойства – это свойства вкуса, запаха, консистенции, окраски, внешнего вида и т.д., оцениваемые с помощью органов чувств специалиста. Органолептический анализ пищевых и вкусовых продуктов

проводится посредством дегустаций, то есть исследований, осуществляемых с помощью органов чувств дегустатора без измерительных приборов.

Органолептические показатели могут указывать на степень развития автолитических процессов, происходящих при хранении, а также на свежесть, характер и глубину развития микробиологических процессов.

Консистенция продукта воспринимается как сумма вкуса, запаха и зрительных ощущений. Консистенция не только взаимосвязана с вкусовыми свойствами и запахом продукта, но также влияет на усвояемость и характеризует свежесть.

Обычно гнилостная порча начинается на поверхности, а затем проникает в толщу мяса, причем, скорость порчи сильно зависит от температуры и влажности окружающей среды, от состояния поверхности (корочка подсыхания, порезы) и гистологической структуры, от вида бактерий, возбуждающих гнилостный распад.

Различные виды порчи взаимосвязаны. Ослизнение, протекающее при повышенных температурах и относительной влажности воздуха более 90%, сопровождается сплошным ростом бактерий. Плесени, развивающиеся в кислой среде, сдвигают рН в щелочную сторону и подготавливают условия для жизнедеятельности гнилостных микроорганизмов.

В результате развития гнилостной микрофлоры происходит распад белков с образованием как первичных, так и вторичных продуктов гидролиза, оказывающих существенное влияние на органолептические показатели и пищевую ценность мяса.

Гистологический метод исследования

Одним из быстрых методов определения свежести мяса является разработанный во ВНИИМПе метод гистологического анализа, который в сочетании с органолептическими показателями позволяет в течение 40-60 мин получить полное представление о состоянии и свежести мяса.

Результаты гистологического анализа отличаются высокой достоверностью; в целом ряде случаев их можно дополнять данными физико-химических, биохимических, органолептических, микробиологических и других исследований.

Гистологический метод позволяет проводить исследования поверхностных и глубинных слоев мяса отдельно и таким образом устанавливать локализацию изменений и увязывать их с изменением определенных структур мышечной ткани мяса.

Изменение структуры ядер мышечных волокон свидетельствует о первоначальных признаках снижения качества мяса под воздействием ферментов развивающейся в его поверхностных слоях гнилостной микрофлоры и говорит о начавшемся процессе гнилостного разложения тканей мяса.

При хороших органолептических показателях по гистологическим показателям такое мясо относят к свежему, но не подлежащему длительному хранению и транспортировке (Антипова и др., 2004).

В.А. Адуцкевичем и А.А. Белоусовым уже давно (1975) в результате гистологических и электронно-микроскопических исследований установлены четкие научно обоснованные микроструктурные показатели степени созревания и порчи мяса.

Порча мяса протекает в три стадии. Степень порчи мяса определяется характером микроструктурных изменений и глубиной их распространения.

Основными микроструктурными показателями порчи мяса являются: пикнотизация и лизис ядер клеток рыхлой соединительной ткани мышечных волокон, деструкция соединительно-тканых клеточных элементов, исчезновение продольной и поперечной исчерченности.

Метод гистологического анализа мяса позволяет определить начало снижения качества мяса в результате воздействия гнилостной микрофлоры на 3-4 дня раньше, чем в нём обнаружатся органолептические и физико-химические признаки порчи. При этом в поверхностных слоях мяса в местах развития гнилостной микрофлоры четко выявляются изменения структуры ядер (Горбатов, Заяс, 1975).

Степень порчи жиров исследуют не только органолептическими, но и различными химическими методами. Результаты определений обычно характеризуют условными единицами – кислотным, перекисным и другими числами. Гидролитическая порча жиров характеризуется накоплением свободных жирных кислот. Это может быть как следствием автолиза, так и результатом действия других факторов: кислот, щелочей, оксидов металлов и других неорганических катализаторов, а также ферментов микроорганизмов.

Под влиянием тканевых липаз наблюдается гидролитический распад триглицеридов, в результате чего отмечается нежелательное для качественной характеристики жира накопление свободных жирных кислот, выражающееся в повышении кислотного числа жира.

О начале и глубине окисления жира судят по величине перекисного числа. В свежем жире пероксидов практически нет. На начальных стадиях окисления в течение некоторого времени химические и органолептические показатели жира почти не изменяются. Этот период, имеющий для различных жиров разную продолжительность, называется индукционным. После окончания этого периода жир начинает быстро портиться, что сопровождается увеличением перекисного числа и изменением органолептических свойств жира.

Оптические методы исследования

Мясо и мясопродукты в связи со сложностью микроструктуры имеют большую оптическую плотность.

Оптические характеристики могут быть спектральными и интегральными. В первом случае они характеризуют явления, происходящие при определенной длине волны света. Во втором случае они характеризуют явления для совокупности длин волн, без идентификации длины волны. Для аналитических целей используют спектральные характеристики, для инженерной практики – интегральные.

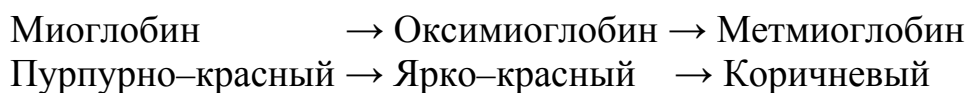
Оптические свойства мяса могут играть важную роль в оценке цветности. Объективно измерение цвета мяса может служить для:

- 1) оценки его пригодности как сырья для переработки;
- 2) оценки качества готового продукта;
- 3) оценки правильности хода технологических процессов;
- 4) дополнения или контроля правильности органолептических оценок.

В технологических исследованиях объективное измерение цвета чаще всего применяют в качестве второй по важности (после измерения активной кислотности) качественной проверки испытуемого образца. В исследованиях процессов, связанных с сохранением приятной традиционной окраски оно выдвигается на первое место (Антипова и др., 2004).

Мясо имеет специфический цвет благодаря красному белку миоглобину. Все нормальные мышцы (особенно поперечно полосатые) содержат миоглобин, но в разном количестве.

При присоединении молекул кислорода (содержащихся в цитоплазме и мембранах мышечных клеток) к миоглобину образуется оксимиоглобин, придающий мясу ярко-красный цвет. Затем, в ходе окисления двухвалентного железа гема этого белка до трехвалентного, оксимиоглобин переходит в метмиоглобин, и красный цвет свежего мяса меняется на темный, грязно-коричневый. Указанные процессы протекают согласно схеме:



Обычно считают, что переход свыше 50% оксимиоглобина в метмиоглобин означает, что мясо непригодно к употреблению.

Процесс окисления интенсифицируется под действием света, повышенной температуры, pH среды и т.п. В обычных условиях (20°C, влажность 50%, отсутствие прямых солнечных лучей) процесс длится 2–4 суток (Шредер, Кулик, 2007).

Для инструментального определения цвета продуктов в отраженном монохроматическом свете используют спектрофотометры. Измерение коэффициентов отражения при длинах волн 627, 635 и 650 нм дает возможность установить образование метмиоглобина.

Отношение оптических плотностей при поглощении света при определенных длинах волн D545/D650 и D582/D652 в некоторых случаях (хранение в неправильных условиях) может указывать на изменения в окраске мяса. Величины D545 и D582 являются мерой интенсивности окраски мяса (Антипова и др., 2004).

Биофизические методы оценки сохранности фарша

В ИБК РАН были разработаны высокочувствительные биофизические способы количественной оценки сохранности говядины и говяжьего фарша при хранении. Одной из наиболее чувствительных к порче оказалась NADH-оксидазная активность митохондриальной дыхательной цепи, детектируемая разными методами.

С помощью фотометрического, флуориметрического, полярографического и pH-метрического тестов была измерена NADH-дегидрогеназная активность парной, замороженной и несвежей говядины, а также прослежена динамика порчи гомогенатов из мышц крупного рогатого скота в зависимости от замораживания-размораживания, температуры, продолжительности хранения, pH, ионов кальция и цитрата.

Другой подход был основан на резком увеличении интенсивности излучения флавинов при их выходе из флавопротеинов мышечных клеток (в частности из NADH-дегидрогеназного комплекса митохондрий) в водную фазу. Было показано, что при размораживании и последующем хранении говядины или говяжьего фарша интенсивность, форма спектра и степень поляризации флавиновой флуоресценции заметно изменяются и являются удобными параметрами, характеризующими сохранность.

С помощью современных лабораторных биофизических методов в ИБК РАН проводятся обширные экспериментальные исследования основных типов молекулярных повреждений компонентов мышечной ткани в ходе выделения, обработки и хранения. Акцент в исследованиях делается на высокочувствительные спектральные методы. Ранее эти методы использовались исследователями в науке о мясе лишь фрагментарно и не были доведены до корректного применения в качестве объективных и надежных критериев (Антипова, 2000).

Сущность одной из методик спектроскопического анализа заключается в том, что белки мышечных клеток при возбуждении УФ светом заметно флуоресцируют (с максимумом при ~ 340 нм) (Орешкин, 1985). В ходе переработки мяса и хранения фарша происходят денатурация и гидролиз клеточных белков. Это сказывается на спектральных параметрах (интенсивности, длине волны максимума излучения, степени поляризации, продолжительности жизни возбужденного состояния) триптофановой и тирозиновой флуоресценции белков (Векшин, 2005).

Также можно использовать для анализа флуоресценцию NADH и флавинов. При порче фарша происходит выход флавинмононуклеотида (ФМН)

из митохондриальной NADH-дегидрогеназы в раствор, что сопровождается заметным возрастанием интенсивности флуоресценции ФМН и существенным снижением степени поляризации (Векшин, 2006). Из-за утраты ФМН митохондриями происходит падение NADH-оксидазной активности. В то же время NADH: феррицианид-редуктазная активность не снижается, так как ФМН в этой реакции не участвует.

Мутность (светорассеяние) мелкодисперсного гомогената измеряется фотометрически. При хранении мышечного гомогената в течение суток его мутность существенно возрастает. Сукцинат и АДФ резко замедляют величину помутнения, так как сильно снижают интенсивность процессов окисления липидов гомогената и агрегацию мембран.

С помощью “арсенала” современных лабораторных биофизических методов (фазовая, поляризационная, стационарная и флуоресцентная спектроскопия; абсорбционная спектроскопия в УФ, видимой и ИК области; люминесцентная и фазово-контрастная микроскопия; колориметрия; полярография кислорода и др.) в Институте биофизики клетки РАН проводятся обширные экспериментальные исследования по изучению:

- процессов денатурации мышечных белков, окисления жиров и повреждения тканей в зависимости от условий замораживания, размораживания, от температуры, продолжительности хранения, буферной среды, от концентрации внутриклеточного кислорода, солей и pH при различных условиях гоменизации мышц и хранения фарша;
- роли митохондриальных железосерных белков и цитохромов в образовании супероксида, в перекисном окислении липидов, в повреждении мембранных белков и порче фарша;
- консервирующих и антиоксидантных свойств субстратов дыхательной цепи, ди-, трикарбоновых кислот и восстановленного никотинамидадениндинуклеотида (NADH);
- действия ди-, трикарбоновых кислот и NADH при добавлении солей кальция к фаршу извне;
- возможности дополнительного удаления кислорода из мышечных гомогенатов с помощью введения дезок-симиоглобина и дезоксигемоглобина;
- механизмов действия природных антиоксидантов (убихинон, токоферол, каротин, ретинол и др.), наиболее пригодных для использования в процессах производства мясных продуктов;
- комплексообразования и механизма действия природных противомикробных олигопептидов в низких концентрациях.

В отличие от наших предшественников (см. новаторскую работу по триптофановой флуоресценции портящегося мяса: Oreshkin E.F. et al. // Fleischwirtsch. 1985, V. 65, N 12, 1498-1500), проводится не просто измерение одного-двух параметров белковой флуоресценции, а с высокой точностью определяются все важнейшие параметры (интенсивность, полуширина спектра, степень поляризации, время жизни возбужденного состояния, константа тушения и др.) флуоресценции специфичных зондов во всех основных ком-

понентах: белках, липидах, нуклеиновых кислотах и др. Важно также, что перечисленные параметры измерены не от "куска мяса", как делалось ранее (т.е. в условиях сильного разброса данных и большого паразитного светорассеяния), а от тонкодисперсного гомогената или прозрачного экстракта из него.

Сущность методики флуоресцентного анализа белков заключается, в частности, в следующем. Белки мышечных клеток при возбуждении УФ светом, как известно, заметно флуоресцируют (с максимумом при ~ 340 нм). В ходе переработки мяса и хранения фарша происходят денатурация и гидролиз клеточных белков. Это сказывается на спектральных параметрах (интенсивности, длине волны максимума излучения, степени поляризации, продолжительности жизни возбужденного состояния и др.) триптофановой и тирозиновой флуоресценции белков. Добавление АДФ приводит к возрастанию интенсивности триптофановой флуоресценции, а добавление хлористого кальция – к снижению; причем, через сутки хранения мелкодисперсного фарша (рН 7,0) при температуре 6°C подобные эффекты не обнаруживаются (таблица).

Таблица. Мутность мышечного гомогената (D при 540 нм) и интенсивность его триптофановой флуоресценции (F_{trp}) в зависимости от вида добавок и времени хранения

Гомогенат:	D_{540} при хранении		F_{trp} при хранении	
	0 час	24 час	0 час	24 час
в 100 мМ фосфате	0,25	0,66	85	100
+ 5 мМ сукцината	0,18	0,36	94	100
+ 5 мМ цитрата	0,21	0,53	91	100
+ 1 мМ АДФ	0,38	0,35	100	100
+ 10 мМ $CaCl_2$	0,52	0,66	73	100

Примечания: Мутность (светорассеяние) была измерена по оптической плотности при 540 нм. Триптофановая флуоресценция белков возбуждалась при 280 нм и регистрировалась при 340 нм. рН во всех пробах был равен 7,0. Разброс данных по флуоресценции составлял $\pm 5\%$.

Хранение фарша в течение суток при комнатной температуре приводит к двукратному снижению степени поляризации триптофановой флуоресценции. Такая сильная деполяризация обусловлена началом денатурации и гидролиза белков. Чем свободней начинает вращаться триптофан и чем меньше вязкость около него, тем сильнее деполяризация.

Для многократного повышения чувствительности люминесцентного анализа были использовались специальные зеркальные кюветы (Vekshin N.L. //Analyt. Chim. Acta, 1989, v.227, 291-295; патенты РФ 1254357 и 1312452).

На основании проведенных исследований было установлено, что контроль сохранности фарша при длительном хранении наиболее надежно можно осуществлять с помощью: колориметрического теста на липидные перекиси, флуориметрических тестов на белковую денатурацию, фотометриче-

ского и рН-метрического тестов на активность митохондриальной NADH-дегидрогеназы, спектрофотометрического теста цитохромов в полосе Core, а также теста с красителем янусом зелёным и флуоресцентным зондом 7-аминоактиномицином на ядерную ДНК (с помощью люминесцентной микроскопии).

Образование перекисей липидов детектируется фотометрически с помощью теста на малоновый диальдегид, а также с использованием флуориметрического теста (Bidlack, Tappel, 1973; Dillard, Tappel, 1973; Yagi, 1976).

Количество перекисей липидов (тест с малоновым альдегидом – МДА) в мясном фарше, полученном из говядины по стандартной технологии (рН-буфер - фосфат), в 2-3 раза выше, чем по нашему методу (в присутствии сукцината или цитрата или без фосфата, но с гидрокарбонатом).

В фосфате (при 6 градусах в холодильнике) мясной фарш хранится плохо, что обнаруживается по запаху, цвету, количеству перекисей липидов, скорости NADH-оксидазной реакции и другим параметрам. В гидрокарбонатном же буфере фарш хранится хорошо.

Таблица. Некоторые физико-химические свойства говяжьего фарша в зависимости от добавок.

Фарш:	D540	Ftrp (%)	NADH-дегид.	МДА (%)
в 100 мМ фосфате	0,25	85	0,23	100
+ 5 мМ сукцината	0,18	94	0,06	30
+ 5 мМ цитрата	0,21	91	0,19	40
в 100 мМ гидрокарбонате	0,17	100	0,02	60

Примечания: Инкубация фарша с добавками: 10 минут при 20°C. Ftrp - триптофановая флуоресценция белков гомогената, D540 – оптическая плотность, характеризующая мутность гомогената, МДА – количество малонового диальдегида, пропорциональное количеству перекисей липидов.

Таблица. Скорость окисления NADH в свежеприготовленном мышечном гомогенате в зависимости от вида добавок

Гомогенат:	НАДН-оксидаза (мкМ НАДН в мин на мг белка)
в 100 мМ фосфате	0,03
+ 5 мМ сукцината	0,06
+ 5 мМ цитрата	0,19
+ 1 мМ АДФ	0,02
+ 10 мМ CaCl ₂	0,11
в 100 мМ гидрокарбонате	0,02

Примечания: Окисление NADH измерено по уменьшению его оптической плотности при 340 нм. Во всех пробах рН был равен 7.

Таблица. Некоторые качественные сравнительные характеристики фарша, получаемого по разным технологиям.

Фарш по технологии:	ГОСТ	ТУ	КПБД
Нитриты	7,5 мг%	до 12,5 мг%	0
Фосфаты и прочая «химия»	до 10 %	до 30%	0
Агрегация белков	средняя	большая	слабая
Перекиси липидов	много	очень много	мало
Дыхание	слабое	очень слабое	сильное
Срок хранения (при 6°C)	5 дней	3 дня	10 дней

Сохранность фарша зависит от состава самого фарша (говядина, свинина, баранина, и т.д.). Для ливерных колбас состав пищевых биодобавок должен быть особым. Органолептические свойства ливерного (печеночного) фарша сильно разнятся, в зависимости от биодобавок.

В таблице ниже показан один из примеров влияния разных биодобавок на ливерный гомогенат, полученный из фарша путём добавления избытка воды, 5 : 1 (избыток воды резко уменьшал вязкость; это делалось для ускорения опытов), после хранения при 6°C в течение 94 часов.

Печеночный гомогенат в:	Цвет	Консистенция	Запах
50 мМ сукцинат натрия	Крас.	Норм	нет
20 мМ лактат натрия	Крас.	Норм	нет
100 мМ имидазол + 150 мМ NaCl, pH 8	Крас.	Мутн	есть?
Гистидин (100 мМ) + NaCl (150 мМ) pH 8	Крас.	Норм	есть
Дигидрокверцетин (0,1 мМ)	Крас.	Мутн	нет
Бизин (1 мг)	Крас.	Норм	нет

Все пробы хранились в холодильнике. Через 12 часов никаких изменений в цвете и консистенции печени не возникло, и никакого запаха не было. На 24-м часу тоже все пробы примерно одинаковы, запаха не было. На 72-м появился слабый запах у имидазольной пробы. На 94-м часу в имидазольной и гистидиновой пробах – то же самое. На 192-м часу (это восьмые сутки) протух гистидиновый образец (мутный; темно-красно-бурый; тухлый запах) и немного попортился образец с ДГК (розовый; мутный; и неприятный запах). На 12-й день протухла проба с сукцинатом (неприятный запах, муть, цвет буроватый). Проба с лактатом помутнела, но сильного запаха не было, цвет был розово-красный. Проба с низином и проба с имидазолом – оставались красными, прозрачными. На 16-й день - то же самое. На 20-й день в пробе с низином все стало бурое и рыхлое, но плохого запаха не было. В

пробе с имидазолом – нормальный цвет и консистенция, но был слабый запах.

Проведенные биофизические исследования гомогенатов, фаршей и тканей позволили перейти к совершенствованию основ технологии мясопереработки.

Что лучше: имидазол, гистидин или фосфат?

В нашей лаборатории были проведены более подробные опыты по изучению влияния на свойства говяжьего мяса нескольких рН-буферных систем, способных также к хелатированию двухвалентных ионов железа, кальция и магния, содержащихся в мясе. Были взяты фосфат, имидазол и гистидин, а также (для сравнения) химический буфер-хелатор ЭДТА.

Опыт 1. В пробах, стоявших 12 дней, в воде и в воде с ЭДТА регистрировалась сильная муть и бурый цвет, а в пробах с имидазолом и имидазолом+ЭДТА цвет был розоватый, мути не было.

Опыт 2.

В холодной комнате делаем фарш. Из него готовим 3 пробы:

3г фарша + 1мл 0,1М фосфатного буфера (рН 7,7)

3г фарша + 1мл 0,1М имидазольного буфера (рН 8)

3г фарша + 1мл 0,1М гистидинового буфера (рН 7,8)

Пробы поместили в герметичные пробирки и поставили в холодильник. Температура хранения проб в данном опыте составляла 6° С.

Опыт 3.

В холодной комнате делаем фарш. Из него готовим 3 пробы:

3г фарша + 1мл 0,1 М фосфатного буфера (рН 8,0)

3г фарша + 1мл 30 мМ фосфатного буфера (рН 8,0)

3г фарша + 1мл 0,1 М имидазольного буфера (рН 8,0)

3г фарша + 1мл 30 мМ имидазольного буфера (рН 8,0)

3г фарша + 1мл 0,1 М гистидинового буфера (рН 8,0)

3г фарша + 1мл 30 мМ гистидинового буфера (рН 8,0)

<i>Параметры</i>	Фосфатный буф.	Имидазол. буф.	Гистидин. буф.
<i>первые сутки</i>			
<i>Цвет</i>	Буреет	Красный	Розовый
<i>Запах</i>	Нет	Нет	Нет
<i>pH</i>	7	6	6
<i>Вязкость</i>	Невязкий	Слабовязкий	Слабовязкий
<i>Вторые сутки</i>			
<i>Цвет</i>	Буреет	Красный	Розовый
<i>Запах</i>	Нет	Нет	Нет
<i>pH</i>	6	5	5
<i>Вязкость</i>	Невязкий	Слабовязкий	Слабовязкий
<i>третьи сутки</i>			
<i>Цвет</i>	Бурий	Красный	Розовый
<i>Запах</i>	Нет	Нет	Нет
<i>pH</i>	6	5	5
<i>Вязкость</i>	Невязкий	Слабовязкий	Слабовязкий
<i>четвертые сутки</i>			
<i>Цвет</i>	Бурий	Красный	Буреет
<i>Запах</i>	Нет	Нет	Нет
<i>pH</i>	6	5	5
<i>Вязкость</i>	Невязкий	Вязкий	Слабовязкий
<i>пятые сутки</i>			
<i>Цвет</i>	Бурий	Красный	Бурий
<i>Запах</i>	Средний	Нет	Слабый
<i>pH</i>	6	5	5
<i>Вязкость</i>	Невязкий	Вязкий	Вязкий
<i>шестые сутки</i>			
<i>Цвет</i>	Зелено-бурий	Красный	Бурий
<i>Запах</i>	Сильный	Нет	Средний
<i>pH</i>	6	6	5
<i>Вязкость</i>	Вязкий	Вязкий	Невязкий
<i>седьмые сутки</i>			
<i>Цвет</i>	Зелено-бурий	Красный	Бурий
<i>Запах</i>	Очень сильный	Нет	Средний
<i>pH</i>	6	6	6
<i>Вязкость</i>	Вязкий	Вязкий	Невязкий
<i>восьмые сутки</i>			
<i>Цвет</i>	Зелено-бурий	Красный	Зелено-бурий
<i>Запах</i>	Тухлый	Нет	Средний
<i>pH</i>	6	6	6
<i>Вязкость</i>	Вязкий с комочк.	Вязкий	Невязкий

Опыт 4.

Аналогичные пробы поместили в герметичные пробирки и поставили при комнатной температуре (19 °С), для более быстрого осуществления опыта.

Пара мет-ры	Фосфатный буфер		Имидазольный буфер		Гистидиновый буфер	
	0,1М	30мМ	0,1М	30мМ	0,1М	30мМ
(первые сутки)						
Цвет	Красный	Розовый	Крас-ный	Розовый	Розо-вый	Розо-вый
За-пах	Средний	Слабый	Нет	Малозамет-ный	Сред-ний	Сла-бый
рН	6	6	6	6	6	5
Вяз-кость	Невязкий	Невязкий	Вязкий	Вязкий	Вязкий	Вяз-кий
(вторые сутки)						
Цвет	Красный	Розовый	Бурый	Розовый	Бурый	Розо-вый
За-пах	Очень силь-ный	Сильный	Слабый	Средний	Сред-ний	Силь-ный
рН	6	6	6	6	6	5
Вяз-кость	Вязкий	Слабовяз-кий	Вязкий	Вязкий с комочками	Вязкий	Вяз-кий
(третьи сутки)						
Цвет	Розовый	Бурый	Бурый	Бурый	Бурый	Тух-лый
За-пах	Тухлый	Очень силь-ный	Сред-ний	Средний	Очень силь-ный	Очен-ь силь-ный
рН	6	6	6	5	6	5
Вяз-кость	Вязкий с комочками	Слабовяз-кий	Вязкий	Вязкий с комочками	Вязкий	Сла-бовяз-кий

Таким образом, из полученных данных следует, что оптимальным рН-буфером-хелатором для хранения говяжьего фарша является имидазол.

NADH-дегидрогеназные тесты сохранности мяса и фарша

В клетках мышц млекопитающих около 30% сухой массы составляют митохондрии. Именно они ответственны, в первую очередь, за кислород-зависимые реакции.

NADH:убихинон – оксидоредуктаза (Комплекс I, первый пункт энергетического сопряжения) или попросту NADH-дегидрогеназа, является ключевым ферментом дыхательной цепи митохондрий. Этот фермент катализирует ротенон-чувствительное окисление восстановленного никотинамидадениндинуклеотида (NADH) и сопряженный с транспортом электронов перенос протонов через мембрану.

Комплекс I – чрезвычайно сложный компонент дыхательной цепи: в митохондриях млекопитающих фермент построен, по крайней мере, из 45 различных субъединиц. Он имеет массу около одного миллиона дальтон (Walker, 1992). Семь субъединиц кодируются митохондриальным геномом (Chomyn et al., 1985). В составе фермента обнаружено несколько редокс-компонентов, участвующих в переносе электронов от NADH на флавинонуклеотид (FMN), шесть железо-серных кластеров и прочно связанный убихинон (Виноградов и др., 1999).

В интактных мышечных клетках NADH-дегидрогеназа, находящаяся в митохондриях во внутренней мембране, почти не активна в отношении экзогенного NADH, так как митохондриальные мембраны очень плохо проницаемы для него. Экзогенно добавленный к клеткам NADH может быстро окисляться только в пермеабелизованных клетках и митохондриях, например, после их замораживания – размораживания, механического повреждения или набухания (при помещении в гипотоническую среду). При повреждении мембран происходит активация фермента и начинается быстрое окисление добавленного NADH. Окисление NADH резко возрастает при гомогенизации мышц, в момент разрушения клеток и мембран.

Процесс окисления NADH в дыхательной цепи состоит из нескольких сложных стадий, в которых последовательно участвуют: NADH-дегидрогеназный комплекс, убихинон, цитохромы и цитохромоксидаза. При малейшем повреждении одного из этих электронных переносчиков тут же приводит к блокированию NADH-оксидазной реакции. Поэтому процесс чрезвычайно чувствителен к порче мяса и фарша (Векшин и др., 2006).

Было обнаружено, в частности, что одним из наиболее адекватных показателей сохранности фарша является активность митохондриальной NADH-дегидрогеназы.

При повреждении мембран этот фермент резко активируется и начинает быстро окислять добавленный NADH. Необходимо особо отметить, что при гомогенизации мышц, в момент разрушения клеток и мембран, окисление NADH возрастает чрезвычайно резко.

Основным лабораторным объектом опытов служила говядина и мелко-дисперсный гомогенат, полученный из нее путем тщательной высокоскоростной гомогенизации тефлоновым пестиком в плотном стеклянном гомогенизаторе.

Образцы готовили из мышц, взятых в течение двух часов после убоя животного, и помещали в замораживаемую в дальнейшем среду выделения (рН не ниже 7,5). Для этого очищенную от жира и соединительной ткани мышцу разрезали на кусочки и измельчали в охлажденной мясорубке или миксером. Полученный фарш сразу попадал в среду выделения. Смесь гомогенизировали в течение 10 минут при 4°C в гомогенизаторе «Политрон».

Полученную мелкодисперсную гомогенатную суспензию, содержащую ~ 10 мг белка / мл, разделяли на аликвоты и при необходимости замораживали до минус 18 °С. Перед опытом аликвоту размораживали при 4 °С. Конечная концентрация белка при измерении ферментативной активности в разбавленной суспензии составляла в разных опытах от 0,025 до 0,25 мг в 1 мл.

Процесс окисления сопровождается забираем протонов из среды, что сопровождается ее защелачиванием. Измеряя защелачивание в слабом буфере, можно отслеживать скорость окисления NADH. Достоинством рН-метрического метода является его простота и доступность, недостатком — то, что защелачивание может происходить и при других биохимических реакциях, не имеющих отношения к окислению NADH.

Процесс можно детектировать также по потреблению молекулярного кислорода. Для этого используется полярографический метод, заключающийся в восстановлении кислорода при 0,68 В на платиновом электроде. Применяя кларковский электрод (закрытый тефлоновой пленкой, проницаемой для кислорода), можно отслеживать кинетику митохондриального дыхания.

Поскольку NADH имеет характерную полосу оптического поглощения при 340 нм, а его окисленная форма (NAD⁺) не имеет такой полосы, то можно отслеживать процесс по убыли оптической плотности NADH. Кинетику окисления NADH в дыхательной цепи митохондрий мелкодисперсного гомогената легко измерить на спектрофотометре (в отсеке для рассеивающих образцов) или на фотоэлектроколориметре при длине волны 340 или 360 нм. Для этого две кюветы (измерительная и контрольная) заполняют разбавленной суспензией в такой концентрации, чтобы оптическая плотность фонового вклада светорассеяния не превышала 0,2. Затем в измерительную кювету вносится раствор NADH. Конечная концентрация NADH должна быть 10–100 мкМ, чтобы в кювете с толщиной слоя 0,2–2 см оптическая плотность не превышала 1. Уменьшение оптической плотности в единицу времени соответствует скорости окисления NADH в дыхательной цепи митохондрий.

Кроме того, NADH (в отличие от NAD⁺) флуоресцирует при 450 нм. Значит, за процессом в принципе можно следить флуориметрически. Этот метод имеет очень высокую чувствительность. Для многократного повышения чувствительности флуоресцентного анализа применяются специальные

многоходовые кюветы (Vekshin N.L., 2002; патенты РФ 1254357 и 1312452). Однако этот подход не слишком хорош для работы с густыми гомогенатами или сильно светорассеивающими суспензиями, то есть нужно получать максимально мелкодисперсный гомогенат и многократно его разбавлять.

Итак, существуют четыре варианта определения NADH-оксидазной активности, а именно:

- по защелачиванию среды;
- по потреблению кислорода;
- по убыли оптической плотности NADH при 340 нм;
- по снижению флуоресценции NADH при 450 нм.

При добавлении в суспензию феррицианида скорость окисления NADH резко возрастает. При этом происходит восстановление феррицианида до ферроцианида. Феррицианид-индуцированное окисление NADH нечувствительно к ингибиторам дыхательной цепи. Дыхательная цепь в указанной реакции не принимает прямого участия. Отсутствие чувствительности к ротенону означает, что процесс окисления NADH шунтируется феррицианидом до убихинон-связывающего участка NADH-дегидрогеназы.

Феррицианид-зависимое окисление NADH (еще раз подчеркнем, что здесь дыхательная цепь участия не принимает) удобнее всего измерять по восстановлению феррицианида, оптическая плотность которого в районе 410 нм при его восстановлении до ферроцианида заметно снижается. В измерительную кювету вносятся сильно разбавленная гомогенатная суспензия, феррицианид и NADH, а в контрольную — те же компоненты без NADH. Конечная концентрация NADH и феррицианида должна быть не более 100 мкМ. Оптическая плотность феррицианида при 410 нм измеряется до внесения NADH и затем сразу (через 15–20 сек) после внесения. Окисление NADH в этой реакции можно измерять также при 340–360 нм.

NADH-дегидрогеназная активность оказалась очень чувствительной к порче мяса (табл.). Причем NADH-оксидазная активность ведет себя по-другому, чем NADH:феррицианид-редуктазная. Хотя NADH: феррицианид-редуктазная активность (принадлежащая фрагментам митохондриальной NADH-дегидрогеназы и микросомам) всегда более высока, но она несколько менее чувствительна к порче.

Парному мясу после его тщательной гомогенизации до мелкодисперсного гомогената присуща довольно высокая NADH-оксидазная активность. При однократном замораживании-размораживании получаемый гомогенат имеет существенно меньшую активность; при многократно повторяющемся замораживании-размораживании мяса наблюдается резкое снижение активности; при полной порче (несвежее мясо) имеет место полная инактивация. NADH:феррицианид-редуктазная активность ведет себя по-другому. В парном мясе она относительно невелика; при однократном замораживании она возрастает; при многократно повторяющейся операции еще возрастает, но при полной порче резко падает. Поведение обеих активностей может служить хорошим тестом качества мяса.

На гомогенатах из свежего или замороженного мяса были произведены измерения влияния pH на скорость окисления NADH через дыхательную цепь и через феррицианид. Были получены колоколообразные pH-зависимости с оптимумом в пределах от 6 до 8. При этом феррицианид-зависимое окисление оказалось более устойчивым к изменениям pH.

По мере хранения гомогената из свежей или из замороженной говядины в холодильнике при температуре 6°C при нейтральных значениях pH было установлено, что NADH-оксидазная и NADH: феррицианид-редуктазная активности существенно изменяются во времени (табл.). NADH: феррицианид-редуктазная активность сначала возрастает (противоположно NADH-оксидазной активности), а в конце (при окончательной полной порче) — падает.

Таблица. Изменение NADH-оксидазной и NADH:феррицианид-редуктазной активности гомогенатов

Время хранения, ч	NADH-оксидаза, отн.ед.	NADH: феррицианид-редуктаза, отн.ед.
1	13	110
24	9	120
48	6	180
72	—	220
96	4	150
144	< 2	50

Примечание: Исходная NADH:феррицианид-редуктазная активность (0 ч хранения) была принята за 100 относительных единиц.

Кроме того, мы изучили влияние ионов кальция и цитрата. Для этого полученный густой гомогенат делили на три части: без внесения добавок (контроль); с добавлением 0,5 мМ хлористого кальция; с добавлением 5 мМ цитрата. Каждую из частей делили на аликвоты массой 5 г. Половину аликвот каждой части помещали в морозильник при минус 18 градусах (контроль). Такое же количество проб из каждой части помещали в холодильник при 6° С (опыт). Все манипуляции с гомогенатом проводили при температуре 4° С. В ходе измерений все пробы суспендировали в 30 мл 0,015 М гидрокарбоната натрия (этот буфер предотвращает порчу).

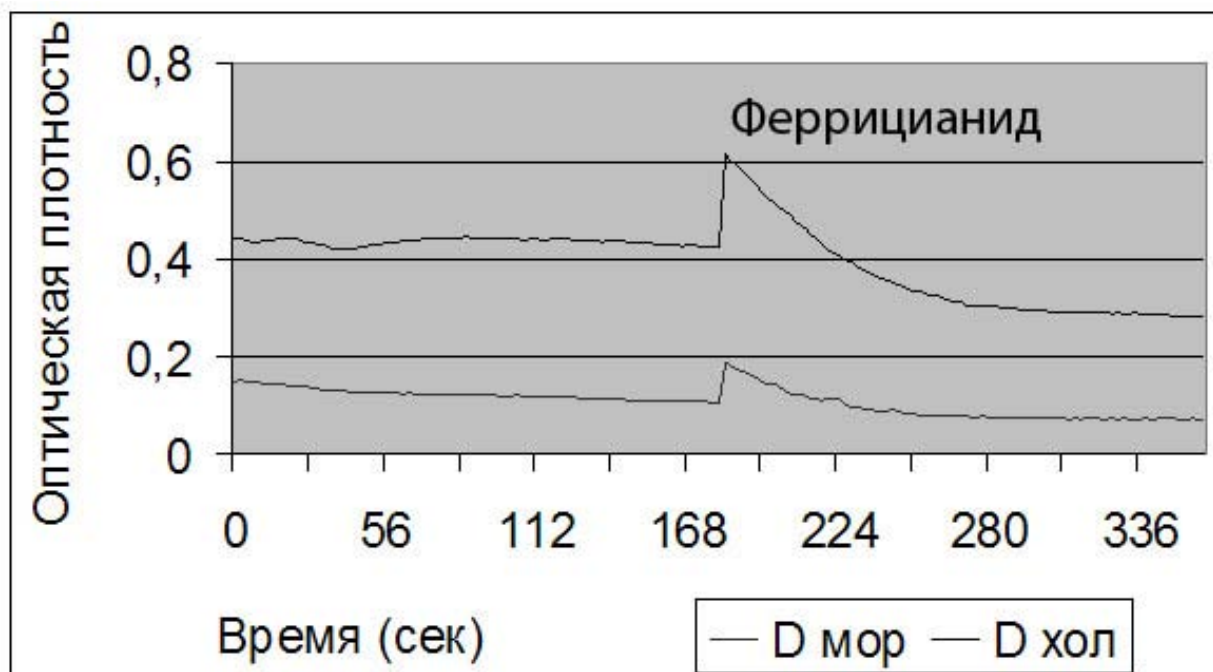
Оказалось, что цитрат или кальций существенно — в 2–3 раза — активируют NADH-оксидазную реакцию в момент внесения в гомогенат и в течение первого часа хранения. Однако с увеличением времени хранения эти добавки начинали подавлять эту реакцию. Через 24–48 ч хранения скорость снижалась в несколько раз, а через 72–96 ч — падала практически до нуля. Цитрат или кальций в момент внесения и в течение первого часа заметно ак-

тивировали также NADH:феррицианид-редуктазную реакцию, а со временем (при хранении) возникало существенное ее подавление. Результаты, полученные с кальцием и цитратом, означают, что оба эти вещества сильно меняют свойства фарша.

NADH:феррицианид-редуктазная активность гомогената

NADH:феррицианид-редуктазная активность оказалась весьма чувствительной к порче мяса. Эта активность в значительной степени принадлежит фрагментам митохондрий и фрагментам митохондриальной NADH-дегидрогеназы.

На рисунке ниже показана NADH:феррицианид-редуктазная активность в мелкодисперсных гомогенатах, полученных из мышц коровы при двух способах хранения: в замороженном виде (-18°C) и при простом охлаждении ($+6^{\circ}\text{C}$). Измерение велось (при комнатной температуре) по скорости окисления NADH при 340 нм. Добавления феррицианида дает мгновенную прибавку оптической плотности, т.к. сам феррицианид тоже поглощает при 340 нм. Последующее медленное уменьшение оптической плотности вызвано ферментативной редокс-реакцией.



Как видно из рисунка, при добавлении феррицианида в суспензию скорость окисления NADH возрастает. Причем, самая высокая скорость окисления NADH наблюдается у мяса, стоявшего при комнатной температуре, ниже - у мяса из холодильника и самая низкая - у мяса из морозильника.

Из таблицы видно, что при однократном замораживании-размораживании говядины NADH:феррицианид-редуктазная активность низкая, при хранении в холодильнике эта активность заметно повышается.

Мясо, хранившееся при комнатной температуре имеет самую высокую скорость NADH:феррицианид–редуктазной активности, но при полной порче она резко снижается.

Таблица. Скорость NADH:феррицианид–редуктазной реакции в мелкодисперсных гомогенатах, полученных из мышц коровы.

Состояние исходных мышц	NADH:феррицианид-редуктаза мкМ/мин/мг
Однократно размороженная говядина	0,2
Говядина, хранившаяся сутки в холодильнике	0,3
Говядина, стоявшая сутки при комнатной температуре	0,4
Несвежая говядина	0,01

Фотометрирование можно вести как по убыли оптической плотности NADH (при 340 нм), окисляющегося до NAD, так и по убыли оптической плотности феррицианида (при 410 нм), восстанавливающегося до ферроцианида.

Таким образом, полученные данные показывают, что изменение оптической плотности в искусственной NADH:феррицианид редокс-реакции является достаточно простым и удобным тестом на сохранность качества мяса и фарша.

Потеря флавина как тест на сохранность

Все препараты NADH–дегидрогеназного комплекса I и его каталитически активные фрагменты содержат флавинмонопнуклеотид (FMN), который находится внутри глобулы фермента (в 51-кДа субъединице). FMN довольно легко может быть потерян, так как связан не ковалентно. Как известно, NADH–дегидрогеназа – единственный митохондриальный мембранный фермент, содержащий нековалентно-связанный FMN. Все другие флавиновые белки митохондрий содержат FAD, связанный ковалентно. Известна утрата FMN в ходе выделения и очистки Комплекса I. Именно поэтому очищенный фермент имеет низкую NADH–убихинон–редуктазную активность (но высокую NADH–феррицианид–редуктазную).

Интенсивность флуоресценции флавинов митохондрий низка (прежде всего – из-за тушения железо-серными кластерами). Флавиновая флуоресценция митохондрий обусловлена не только ФМН Комплекса I, но также ФАД–содержащими флавопротеинами, дающими вклад около 30% (Векшин и др., 2001). Судя по спиновым характеристикам (Hatefi, 1985), в Комплексе I по соседству с ФМН имеется железо-серный кластер Fe₄S₄, который эффективно затушивает его флуоресценцию (Векшин и др., 2001).

ФМН может спонтанно (вероятно за счет тепловых флуктуаций много-субъединичной структуры Комплекса I) выходить из инкубируемых митохондрий. Поскольку свободный ФМН в растворе имеет высокую интенсивность флуоресценции, то при инкубации суспензии митохондрий в течение нескольких часов интенсивность флавиновой флуоресценции неуклонно возрастает. Потеря ФМН Комплексом I сопровождается снижением скорости NADH: убихинон-редуктазной реакции. Выход ФМН не влияет на скорость NADH: феррицианид-редуктазной реакции (так как ФМН не является участником передачи электронов с NADH на феррицианид). ФМН необходим только для NADH: убихинон-редуктазной активности, но не для NADH: феррицианид-редуктазной (Векшин и др., 2001). В отличие от окисления NADH в дыхательной цепи, NADH:феррицианид-редуктазная реакция не чувствительна к ротенону. Она протекает в основном на поврежденном Комплексе I или отделенном периферическом фрагменте (Векшин и др., 2004). Нечувствительность к ротенону этой реакции обусловлена тем, что убихинон не принимает в ней участия.

По возрастанию флавиновой флуоресценции можно также судить о качестве мяса, так как при малейшем повреждении митохондрий выход FMN резко усиливается. Высокая вероятность повреждения комплекса I объясняется несколькими причинами. Во-первых, этот комплекс в дыхательной цепи является первым, ключевым. Во-вторых, он чрезвычайно велик – 45 субъединиц. В-третьих, он содержит шесть лабильных железо-серных кластеров и FMN, обеспечивающие передачу электронов с NADH на убихинон. В-четвертых, его работа сопряжена с синтезом АТФ. Поэтому малейшее его повреждение ведет к целой лавине митохондриальных нарушений.

Образцы готовили из свежемороженой говядины, взятой в течение не более суток после убоя животного. Очищенную от жира и соединительной ткани мышцу разрезали на кусочки и измельчали в охлажденной мясорубке. Полученный фарш сразу попадал в холодный буфер (0,1 М фосфат натрия, рН 7,0–7,2) из расчета 1 грамм на каждые 12 мл буферного раствора. Смесь гомогенизировали в течение 10 минут при 4°C в стеклянном гомогенизаторе с плотно притертым тефлоновым пестиком. Полученный жидкий гомогенат делили на три равные части и ставили при определенных условиях. Одну часть помещали в холодильник, вторую оставляли при комнатной температуре, третью помещали в морозильную камеру. Через 1 сутки проводили измерения. Готовили также контрольный образец: размораживали кусочек мяса, измельчали в охлажденной мясорубке, помещали в буфер, после чего гомогенизировали в течение 10 минут при 4°C в стеклянном гомогенизаторе и сразу после этого проводили измерения.

Перед флуоресцентными измерениями осуществляли центрифугирование гомогенатов на мини-центрифуге в течение 5 минут при 3 тыс. об / мин (эта процедура позволяет полностью устранить крупные агрегаты клеток, волокон и т.д.). После чего брали по 9 мл супернатанта и добавляли по 6 мл холодного буфера. Конечное разведение исходного гомогената составляло

при спектральных измерениях 150 раз, а при измерениях степени поляризации – около 450 раз. Все пробы держали на льду. Непосредственно перед флуоресцентным измерением пробы нагревались до комнатной температуры.

Измерения флавиновой флуоресценции осуществляли на спектрофлуориметре «Perkin–Elmer MPF 44B» при комнатной температуре. Возбуждали суспензию при длине волны $\lambda = 450$ нм (максимум полосы флавинового поглощения); щели монохроматоров возбуждения и излучения были 12 и 10 нм, соответственно. Спектр излучения регистрировали в диапазоне от 460 до 600 нм. Сильно разбавленную суспензию (полученную после тщательной гомогенизации мяса или фарша и последующем многократном разбавлении до концентрации не выше 1 мг белка / мл) помещали в стандартную кювету объемом 3,5 мл и проводили измерения. Для многократного повышения чувствительности флуоресцентного анализа использовали также специальные зеркальные кюветы (Vekshin N.L., 2002; патенты РФ 1254357 и 1312452). Отметим, что этот подход мало пригоден для работы с густыми гомогенатами или сильно светорассеивающими суспензиями, т.е. перед измерениями обязательно нужно получать максимально мелкодисперсный гомогенат и многократно его разбавлять.

Концентрацию белка определяли УФ-фотометрическим методом (Векшин Н.Л., 1988). Для этого к пробам, взятым из суспензии, добавляли детергент - 1% додецилсульфата натрия (до конечной концентрации 0,3%), разрушающего мутную суспензию частиц до прозрачного раствора, и измеряли оптическую плотность при 280 нм на спектрофотометре “Specord M–40” (Цейс), после чего по ранее найденной калибровке находили концентрацию белка.

В результате проведенных исследований, были получены данные, представленные в таблице. Интенсивность флуоресценции флавинов суспензии, приготовленной из свежего мяса низка (прежде всего, из-за тушения железосерными кластерами и полярными группами), а степень поляризации высока (из-за низкой вращательной подвижности).

Самая высокая интенсивность флавиновой флуоресценции наблюдалась у мяса, стоявшего при комнатной температуре, самая низкая – у мяса из морозильника. Это связано с тем, что FMN выходит из Комплекса I в раствор, так как связан с ним не ковалентно. Известно, что интенсивность флуоресценции свободного FMN в растворе больше, чем его флуоресценция в составе комплекса. Значит, при порче мяса происходит нарушение структуры фермента NADH–дегидрогеназы и FMN вываливается из него.

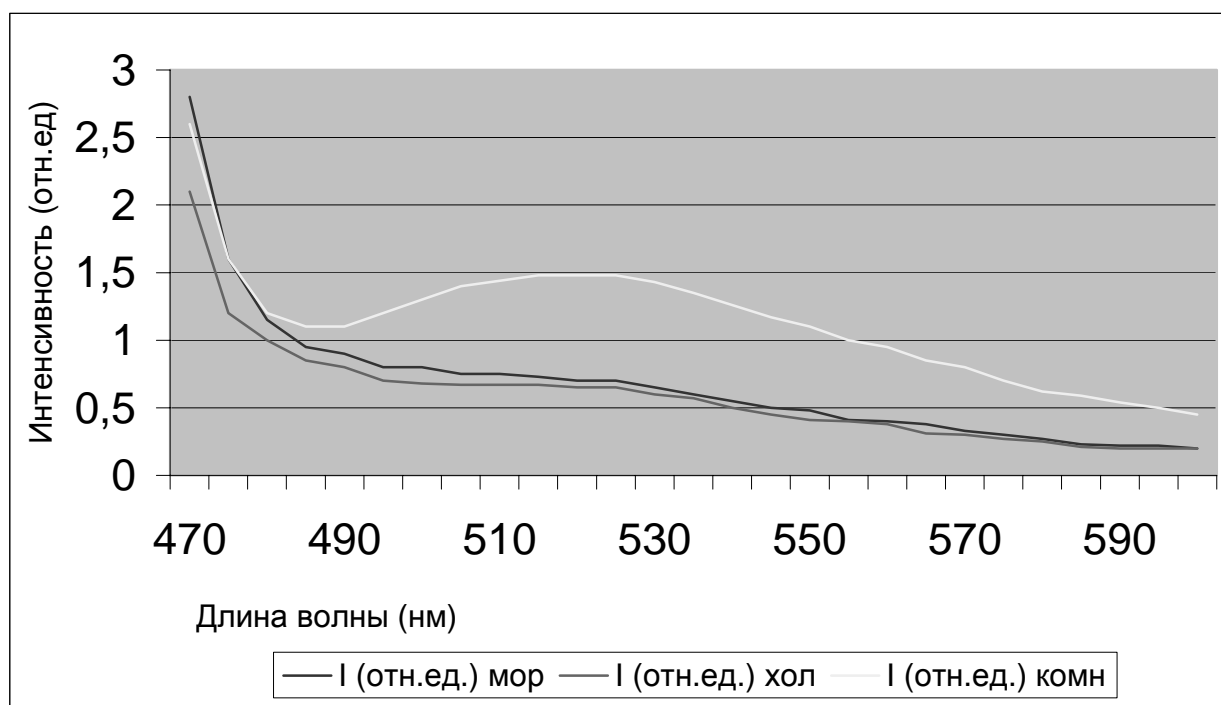
Таблица. Флавиновая флуоресценция суспензий из говяжьего фарша

Образец:	Интенсивность флавиновой флуоресценции	Степень поляризации флавиновой флуоресценции
Однократно размороженная	100	0,54

говядина		
Говядина, хранившаяся сутки в холодильнике	150	0,43
Говядина, стоявшая сутки при комнатной температуре	262	0,32
Дважды размороженная говядина	140	0,5

Также были получены данные из которых следует, что флавиновая флуоресценция у мяса из морозильника немного выше, чем у мяса, хранившегося в холодильнике. Это может быть связано с тем, что мясо, которое было взято из морозильника на исследование, дважды замораживалось-размораживалось. То есть при многократном размораживании может нарушаться структура Комплекса I.

На рисунке ниже показаны спектры флавиновой флуоресценции трех образцов суспензий, полученных из говяжьего фарша, хранившегося: а) в замороженном виде при -18°C , б) в холодильнике при $+6^{\circ}\text{C}$, в) в комнате при $+20^{\circ}\text{C}$. Максимум излучения у всех трех образцов находится около 520 нм (резкий подъем интенсивности в районе короче 470 нм обусловлен в основном светорассеянием - попаданием возбуждающего света в канал регистрации излучения). Форма спектра излучения у трех образцов неодинакова. Причиной этого являются: разница в полярности флавинового микроокружения и разный вклад светорассеяния; кроме того, имеются флуктуации сигнала при низкой интенсивности флуоресценции.



P

Спектр флавиновой флуоресценции (мясо, хранившееся в морозильнике, размораживалось—замораживалось дважды).

Самая высокая интенсивность флавиновой флуоресценции наблюдалась у суспензии, полученной из фарша или говядины, стоявших при комнатной температуре; самая низкая – у хранившихся в замороженном виде при -18°C (Рис., Табл.). Образцы, полученные из говядины или фарша, хранившихся в холодильнике при $+6^{\circ}\text{C}$, занимают промежуточное положение, причем, они обычно более близкое к образцу, полученному из замороженного мяса или фарша.

Таблица. Интенсивность флавиновой флуоресценции (при 520 нм) в разбавленных суспензиях, полученных из кусочков говядины.

Говядина:	Интенсивность (отн.ед.)
Однократно размороженная	100 ± 10
Дважды размороженная	140 ± 10
Хранившаяся сутки в холодильнике	150 ± 10
Стоявшая сутки при комнатной температуре	260 ± 10

При хранении фарша при комнатной температуре в течение суток возникает начало порчи, которое с трудом обнаруживается органолептически, микробиологическими и традиционными инструментальными методами, но легко выявляется флуориметрически. В NADH-дегидрогеназном комплексе при порче происходит нарушение структуры, и поэтому ФМН «вываливается» из него в водную фазу. Это сопровождается деполяризацией флуоресценции (Табл.). Чем больше флавинов образца выходит в воду, тем меньше становится степень поляризации. У полностью свободного ФМН, который из-за своих малых размеров, в отличие от больших макромолекул флюовпротеинов, вращается в воде очень быстро, степень поляризации составляет 0,06 (Табл.).

Таблица. Степень поляризации флавиновой флуоресценции (при возбуждении 450 нм и излучении 520 нм) в разбавленных суспензиях, полученных из фарша, хранившегося в разных условиях.

Положение поляроидов	F- ФМН	F- Замор.	F-Холод.	F-Комнат.
0 – 0	28	10	12	14
9 – 0	41	6	8	11
9 – 9	46	5	7	11
0 – 9	28	3	4	6
Степень поляризации	0,06	0,47	0,45	0,4

Примечание: F – интенсивность поляризованного излучения при определенном положении поляроидов в спектрофлуориметре (приведены округленные значения F). Степень поляризации рассчитана как $(F_{00} / F_{90} - F_{09} / F_{99}) / (F_{00} / F_{90} + F_{09} / F_{99})$.

Необходимо отметить, что сам по себе процесс гомогенизации мышц, приводящий к механическому разрушению клеток, не вызывает заметного выхода ФМН из флавопротеинов.

Нельзя исключить, что при хранении фарша в течение суток при комнатной температуре, помимо выхода ФМН из NADH-дегидрогеназного комплекса, происходит также частичный гидролиз ФАД (в других флавопротеинах). В результате в растворе также появляется свободный ФМН.

В итоге через сутки интенсивность флавиновой флуоресценции образца, полученного из «комнатного» говяжьего фарша или говядины, оказывается по крайней мере в 2-3 раза большей, чем из замороженного фарша или замороженной говядины (Рис., Табл.). Величина интенсивности варьирует (обычно в пределах 10%) в разных опытах, завися от сохранности исходной говядины и иных условий.

Были получены также данные (Табл.) свидетельствующие о том, что флавиновая флуоресценция у образцов, полученных из мяса, которое дважды размораживалось, лишь немного ниже, чем у мяса, хранившегося в холодильнике, но заметно выше, чем у однократно замороженного. Это может быть связано с тем, что при двукратном (и тем более – многократном) размораживании порча мяса активируется.

Итак, измерение флавиновой флуоресценции является достаточно простым, удобным и воспроизводимым тестом на качество мяса и фарша. По выходу флавинов из флавопротеинов можно судить о степени свежести и сохранности. Также с помощью этого метода можно определить, однократно ли замораживалось мясо или оно подвергался неоднократной заморозке-разморозке.

Определение ПОЛ в говядине по МДА

Как известно, важнейшей причиной порчи мяса и фарша является перекисное окисление липидов (ПОЛ), один из конечных продуктов которого – малоновый диальдегид (МДА). Измеряя количество МДА, можно, в принципе, судить о величине ПОЛ. Количество МДА определяют по его реакции с тиобарбитуровой кислотой (ТБК). При высокой температуре и кислом pH две молекулы ТБК образуют с молекулой МДА триметиновый окрашенный комплекс (Ю.А. Владимиров, А.И Арчаков, 1972):

Молярный коэффициент экстинкции триметинового комплекса при 532 нм очень высок – $1,56 \times 10^5 \text{ М}^{-1} \text{ см}^{-1}$. Фотометрируя комплекс, можно измерить низкие концентрации МДА (порядка 1 мкМ.). Чувствительность этого метода во много раз выше других методов измерения ПОЛ. Вот почему он уже

давно широко используется в биохимии в отношении различных видов клеток и их органелл (Н. Ohkawa, N. Ohishi., K.Yagi, 1979; Т. Asakawa, S. Matsushita, И.Д Стальная, Т.Г. Гаришвили, 1977).

Однако в отношении плотных мышечных тканей, в частности - поперечнополосатых мышц крупного рогатого скота, этот метод практически не применялся. Это связано с двумя причинами: низким содержанием липидов в таких мышцах (из-за чего там слишком мало МДА) и трудностью гомогенизации этих мышц (при интенсивной гомогенизации происходит серьезное повреждение клеток, а также сильный нагрев, в результате чего уровень ПОЛ заметно возрастает в сравнении с исходным).

Основным лабораторным объектом наших опытов служил гомогенат, полученный путем тщательного растирания пестиком в фарфоровой ступке фарша, приготовленного путем продавливания через пресс (с диаметром пор 1,5 мм) мелко нарезанных кусочков свежзамороженной говядины, которая была заранее очищена от жира и соединительной ткани. При таком способе обработки мышечной ткани обеспечивается минимум повреждения клеток и отсутствует какой-либо нагрев. Описанную процедуру целесообразно проводить в охлаждаемом помещении, где заранее охлаждаются пресс, ступка, пестик и все растворы.

Чтобы достоверно измерить количество МДА в приготовленном образце, нужно добавить в 5 г фарша от 1 до 4 мл буферного раствора, поддерживающего нейтральный рН (что предохраняет от закисления лактатом, образующимся при разрушении мышечных клеток). В качестве такого буфера в модельных лабораторных опытах использовали 200 мМ фосфат натрия с рН = 7. Фарш тщательно перемешивали с буфером или с буфером, содержащим какие-либо добавки. Полученные гомогенаты помещали в центрифужные пробирки. И сразу добавляли в них по 2 мл 17 %-го раствора трихлоруксусной кислоты (для осаждения белков). Далее следует центрифугирование (15 мин при 10000 об/мин, $g = 7000$ на центрифуге K24, Германия). Из супернатанта отбирали трижды по 2 см³ - для трех параллельных проб - и добавляли к каждой пробе по 1 см³ 0,8 % ТБК, при тщательном перемешивании. Затем пробы инкубировали в пробирках на кипящей водяной бане в течение 50 мин, используя для предотвращения испарения специальные пробки. После охлаждения до комнатной температуры проводилось измерение величины оптической плотности (D) при длине волны 530-550 нм (на спектрофотометре Specord UV-Vis или на фотоколориметре ФЭК или КФК).

Измерение уровня ПОЛ в говяжьих мышцах по реакции ТБК с МДА является простым, удобным и воспроизводимым тестом. Единственное ограничение метода заключается в метаболизме МДА в гомогенате при долгой инкубации: при очень низком уровне ПОЛ и слишком долгой инкубации гомогената (2 ч и более) некоторая часть молекул МДА успевает прореагировать с N-концевыми остатками аминокислот, в избытке образующимися при гидролизе белков. В этом случае количество МДА во времени начинает снижаться и перестает отслеживать уровень ПОЛ.

При добавлении дигидрокверцетина количество перекисей не растет. Это связано с антиоксидантными свойствами дигидрокверцетина. Однако количество перекисей и не уменьшается, как можно было бы ожидать. Для снижения количества перекисей требуется большая концентрация дигидрокверцетина.

Токоферол также обладает антиоксидантными свойствами. Высказано предположение, что при инициации окисления гидроперекиси, происходит окисление токоферола с образованием нерадикальных продуктов (Шумаев и др., 2000). Однако из наших данных это соблюдается только для измерения перекисей на четвертом часу после его добавления. В первый же час уровень перекисей в случае с токоферолом был заметно выше. Скорее всего, это связано с тем, что токоферол исходно содержал в себе перекиси. Как видно из таблицы, количество перекисей на первый час после добавления реактива даже выросло по сравнению с контролем. Значит, в самом реактиве уже содержались перекиси (при длительном хранении в токофероле накапливаются перекиси).

Падение уровня МДА на втором часу, имевшее место во всех пробах, связано, по-видимому, с метаболизмом МДА, вступающим в реакцию с аминокгруппами гидролизующихся белков.

Таблица. Содержание перекисей липидов, определяемое по МДА в свежеприготовленном мышечном гомогенате, в зависимости от вида добавок: дигидрокверцетина и токоферола

№ п/п	Время (часы)	Без буфера	Дигидрокварцетин	Токоферол
1	0	0,22	0,24	0,32
2	1	0,22	0,24	0,30
3	2	0,14	0,14	0,16
4	4	0,28	0,22	0,26

Аскорбиновая кислота и сукцинат натрия также снижают количество перекисей на четвертом часу после добавления реактивов. В последнее время их тоже стали причислять к антиоксидантам. Однако эти вещества не являются прямыми антиоксидантами. Скорее наоборот, являясь потенциальными восстановителями, они способны в некоторых условиях приводить к восстановлению кислорода до опасного супероксида. Однако при определенных условиях в небольших концентрациях они могут стимулировать митохондриальное дыхание мышечных клеток, что ведет, наоборот, к снижению ПОЛ. Именно в этом может проявляться их “антиоксидантное” действие.

В модельной системе (фосфолипидные липосомы в присутствии ионов железа и фосфата, катализирующих ПОЛ) аскорбат обладает не антиоксидантным, а прооксидантным действием, а сукцинат действует слабо даже в

10 мМ концентрации, вероятно, за счет хелатирования ионов железа (Векшин и др., 2006). Вместе с тем, сукцинат и аскорбат в миллимолярных концентрациях при добавлении к живым клеткам снижают перекисное окисление. Такой эффект проявляется только на тех фаршах, которые получены из свежей или свежемороженой говядины, где велика активность митохондриальной дегидрогеназы (Векшин, 2006).

Таблица. Содержание перекисей липидов, определяемое по МДА в свежеприготовленном мышечном гомогенате, в зависимости от вида добавок: аскорбиновой кислоты или сукцината натрия

№ п/п	Время (часы)	Фосфатный буфер (100 мМ)	Аскорбиновая кислота (5 мМ)	Сукцинат натрия (5 мМ)
1	0	0,08	0,16	0,16
2	1	0,07	0,14	0,09
3	2	0,12	0,14	0,13
4	4	0,14	0,14	0,16

Таким образом, антиоксидантное действие сукцината и аскорбата опосредовано активацией дыхательной цепи митохондрий – работой сукцинат-дегидрогеназы и цитохромоксидазы. В мертвых клетках, где митохондрии полностью инактивированны, сукцинат и аскорбат антиоксидантного эффекта не дают.

Является ли аскорбиновая кислота антиоксидантом?

Аскорбиновая кислота широко используется на мясокомбинатах в качестве «антиоксиданта». Но на самом-то деле аскорбиновая кислота как таковая вряд ли является антиоксидантом: она не способна эффективно перехватывать супероксид и липидные свободные радикалы, если в системе есть ионы железа, а они в гомогенате есть (Н.Л. Векшин и др., 2006). Однако, как было описано выше, при определенных условиях в небольших концентрациях она может стимулировать митохондриальное дыхание мышечных клеток, что ведет к снижению ПОЛ (Н.Л. Векшин, 2005). Именно в этом может проявляться ее «антиоксидантное» действие.

Может ли аскорбат являться для фарша реальным непосредственным антиоксидантом?

В говяжьем гомогенате содержится много ионов железа. Аскорбат совместно с ионами железа, как давно известно, является классической прооксидантной системой. При избыточной концентрации или при неактивных митохондриях аскорбиновая кислота в фарше будет, скорее всего, служить

прооксидантом - за счет прямого восстановления ею ионов железа гомогената, что ведет к ПОЛ.

Ниже приведен для примера результат изучения трех разных проб. Пробы были получены при добавлении к 5 г говяжьего фарша: 1 мл 200-мМ фосфатного буфера (рН = 7) – первая проба; 1 мл 30мМ аскорбиновой кислоты, приготовленной на 200мМ фосфатном буфере (рН = 7) - вторая проба; 4 мл того же раствора - третья проба. Продолжительность инкубации полученных гомогенатов - 1 час при 22°C. Во втором гомогенате конечная концентрация аскорбата составила менее 5 мМ, а в третьем – 13 мМ. Причем, в третьем случае гомогенат был за счет разбавления существенно более жидким, поэтому там уровень ПОЛ усиливался еще более существенно.

Таблица. Уровень ПОЛ, измеренный по реакции ТБК с МДА в гомогенате, полученном из размороженной говядины, приведен ниже.

Гомогенат:	Оптич. плотность к-са МДА-ТБК
В фосфатном буфере	0,33
+ 5 мМ аскорбат	0,43
+ 13 мМ аскорбат	0,86

Аскорбиновая кислота в данных условиях и концентрациях не только не оказывает антиоксидантного действия, но наоборот – активирует ПОЛ. Отметим, что в контрольных опытах без гомогената сама аскорбиновая кислота с ТБК (при кипячении в течении 50 мин в кислой среде) не реагировала и окраски не давала.

В ходе контрольных опытов - в отсутствии гомогената, выяснилось, что окисление аскорбиновой кислоты добавляемыми ионами железа заметно катализируется фосфатами. В результате такого неферментативного окисления образуется дигидроаскорбат и другие продукты окисления, причем, раствор из бесцветного постепенно становится розовым. Если эту реакцию проводить в присутствии мышечного гомогената, то через 20 часов у него начинает возникать розовая окраска.

Аскорбиновая кислота в воде (рН 4,1) свою почти бесцветную окраску при хранении 24 часа при 22 градусах не меняет, а в фосфатном 200 ММ буфере (рН 6,7) она даёт со временем розовый цвет (вероятно, образуется дигидроаскорбат и др.). Через 5 дней второй раствор стал ярко-розовым. Это – без какого либо фарша, просто в растворе!

Все это нужно учитывать на мясокомбинатах: при использовании избыточных количеств аскорбиновой кислоты или некачественного мяса (с неактивными митохондриями) уровень перекисного окисления липидов в фарше может опасно повышаться и, кроме того, продукты окисления аскор-

биновой кислоты, особенно быстро образующиеся на фоне добавляемых фосфатов, могут быть не безопасны для здоровья потребителей.

Ниже приведены результаты опытов по влиянию аскорбата, имидазола, фосфата и ЭДТА на спектры гемоглобина в растворе. Эти опыты были важны для понимания путей получения природного красного цвета гемоглобина и миоглобина.

Первый опыт. Гемоглобин лошади (сухой, «Реанал») растворяли в воде в концентрации 10 мг на 1 мл. Через 5 дней брали по 2 мл раствора гемоглобина и добавляли по 1 мл а) гемоглобин в воде, б) 100 мМ аскорбиновой кислоты на 200 мМ цитратном буфере, рН 4,2, в) 100 мМ аскорбиновой кислоты на 200 мМ фосфатном буфере, рН 6. Регистрировали на спектрофотометре спектры поглощения через 1 час, 2 часа, 3 часа и 20 часов. В пробе с аскорбинкой на фосфате уже через 1 час наблюдалось повышенное образование оксимиоглобиновых пиков. Через 3 часа еще добавилось немного. Через 20 часов – началось уменьшение этих пиков, этот раствор позеленел и появилась сильная полоса мет-миоглобина при 645 нм. В других пробах сильных изменений не было. Через 20 часов наименьшее количество мет-миоглобина было в водном растворе гемоглобина без добавок.

Второй опыт. а) гемоглобин в воде, б) гемоглобин + буфер 200 мМ имидазола с 200 мМ аскорбиновой кислоты, рН = 7,6 (с помощью соляной кислоты рН был доведен до 6,95). При слиянии гемоглобина с указанным раствором цвет мгновенно стал ярко-розовым; при этом спектр из мет-миоглобинового стал оксимиоглобиновым (появилась интенсивная двухгорбая полоса); в) гемоглобин + 200 мМ фосфатный буфер, добавлена аскорбинка (рН стал 6,2), цвет розоватый; здесь оксимиоглобиновая полоса менее интенсивна. Через 2 часа в обоих буферных растворах (с аскорбинкой) пики оксимиоглобина сохранились полностью. Через трое суток пики оксимиоглобина резко уменьшились и появился метмиоглобин.

Ниже приведены результаты опытов по влиянию аскорбата, имидазола, фосфата и ЭДТА на спектры гемоглобина и говядины.

Первый опыт. Говядина (замороженная, хранилась почти 1 месяц в морозилке). Продавили 17 г говядины через пресс, расфасовали по 4 г, добавили по 8 мл: а) 200 мМ имидазол с рН 6,96, б) 200 мМ имидазол с 100 мМ аскорбиновой кислоты, общий рН 4,6, в) 200 мМ фосфат, рН 6,95, б) 200 мМ фосфат с аскорбиновой кислотой (рН 6,2). Инкубировали 2 часа, затем центрифугировали, осадок отбрасывали, а супернатант фотометрировали. В супернатантах везде был виден четкий оксимиоглобин, причем в фосфате интенсивность ниже, чем в имидазоле, а аскорбинка добавляет восстановленной формы и там и там до одинакового максимального уровня. Через 17 часов инкубации при 22 градусах измерения провели ещё раз. Получили: в имидазоле – окраска лучше всех, спектр оксимиоглобиновый, максимально интенсивный, в имидазоле с аскорбинкой – сильное побурение цвета, в фосфате – коричнево-фиолетовая окраска, а в фосфате с аскорбинкой – тоже ко-

ричнево-фиолетовая окраска и гелеобразная масса. В присутствии аскорбинки в имидазоле появилась полоса метмиоглобина (в чистом имидазоле мет-формы нет), в фосфате тоже появилась мет-форма.

Второй опыт. Продавили замороженную (в количестве 7 г) говядину через пресс. Расфасовали по 1,5 г. Добавляли по 3 мл: а) воды, б) 200 мМ имидазола, в) 200 мМ фосфата. Поставили при температуре 22 градуса (для ускорения процесса) на трое суток три пробы: а) в воде, в) в имидазоле, 3) в фосфате. По прошествии трех суток окраска стала: в первой пробе – розово-серая, с пленкой, во второй (имидазол) – розовая, без пленки, третья (фосфат) – розово-коричневая, с серой пленкой. Через сутки первая проба сильно протухла, окраска бурая; вторая – ничем не пахнет, но окраска бурая; третья – более красная, лучше чем в воде и имидазоле, но пахнет тухлым и есть сильная полимеризация. Затем добавили к каждому 2 мл пробы по 2 мл 30 мМ аскорбинки. Везде рН стал около 6. На спектре в имидазоле нет оксимиоглобина, а есть восстановленный миоглобин?! (один пик при 550 нм). В фосфате спектры не смогли померять, т.к. там все было запolyмеризовано (вот что происходит в организме при избытке фосфатов!). А в воде четко видны два пика оксимиоглобина. Метмиоглобина нигде почти не видно.

Третий опыт. Промололи 7 г говядины (1-мес. замор.), расфасовали по 1,5 г в четыре стаканчика и добавили в каждую пробу по 3 мл 1) воды, 2) 200 мМ имидазола, 3) 200 мМ ЭДТА (это соль, рН ЭДТА был 6), 4) имидазол + ЭДТА. Пробы поставили при 28 градусах на 23 часа. Затем посмотрели результат: 1) – розовая и пахнет, 2) – розовая, пахнет очень слабо, 3) розовая и пахнет, 4) розовая и пахнет.

Четвертый опыт. Промололи 10 г говядины (1-мес. замор.), расфасовали по 2 г в четыре стаканчика и добавили в каждую пробу по 4 мл 1) воды, 2) 200 мМ имидазола, 3) 200 мМ ЭДТА (это соль, рН ЭДТА был около 6), 4) имидазол + ЭДТА. Пробы поставили на несколько дней при 22 градусах. Затем посмотрели результат: 1) – розовая и пахнет, 2) – розовая, пахнет очень слабо, 3) розовая и пахнет, 4) розовая и пахнет.

Затем посмотрели пробы, которые стояли 5 суток. 1) в воде – красно-бурый цвет и гомогенная консистенция, 2) в имидазоле – розовый цвет и бесцветные кусочки, 3) в ЭДТА – бурый цвет и гомогенная консистенция, 4) в имидазоле с ЭДТА – розовый цвет и белые кусочки. Вывод: имидазол сохраняет цвет и структуру (кусочки) фарша.

Затем посмотрели пробы, которые стояли почти 8 дней. Вывод: ЭДТА частично предотвращает переход оксимиоглобина в метмиоглобин. Окраска с ЭДТА буровато-розовая. В воде – окраска совсем бурая.

Итоги по разработке технологии, КПБД и методов контроля

На первом этапе на говяжьем мышечном гомогенате был осуществлен подбор основных биохимических веществ - компонентов комплексных биодобавок. На гомогенате было проведено тестирование эффективности компонентов биодобавок.

В частности, было найдено, что сукцинат и цитрат в концентрации 5 мМ снижают мутность и увеличивают активность NADH-оксидазы, что свидетельствует об улучшении сохранности клеток в гомогенате.

АДФ в концентрации 1 мМ наоборот увеличивал мутность и уменьшал активность NADH-оксидазы, что свидетельствует об ухудшении их сохранности.

Обнаружилось, что хлорид кальция в концентрации 10 мМ увеличивает как мутность, так и активность NADH-оксидазы.

Было найдено, что хранение гомогената в течение суток увеличивает его мутность, что говорит об ухудшении сохранности, причем, сукцинат и АДФ замедляют этот процесс.

Сильней всего порча говяжьего гомогената происходила в фосфатном буфере. Чем выше концентрация фосфата, тем сильнее была порча.

Были испытаны три комплексные биодобавки и показано, что наиболее эффективно предотвращает протухание говяжьего фарша добавка № 2.

Наличие гистидина в составе этой биодобавки позволяет удлинить срок хранения гомогената с 1 до 3 суток.

Был изучен механизм действия фосфата, имидазола и гистидина на продолжительное хранение фарша.

Продemonстрировано что, в отличие от фосфата, активирующего скорость NADH-дегидрогеназных шунтов, имидазол и гистидин подавляют эти шунтирующие реакции.

Было доказано, что утрата митохондриальной дыхательной активности говяжьего гомогената обусловлена потерей флавиномононуклеотида (ФМН) из NADH-дегидрогеназного комплекса.

На втором этапе проводилось испытание на колбасном фарше комплексных биодобавок на основе ди- и трикарбоновых кислот, а также биодобавок на основе антиоксидантов и олигопептидов.

При этом было обнаружено, что NADH-оксидазная активность наиболее велика в фарше, обработанном аскорбатом.

Сильней всего порча фарша происходит в фосфатном буфере с добавкой аскорбата. Аскорбат, активируя перекисное окисление липидов, усиливает порчу даже при нейтральном pH.

Цитрат и особенно сукцинат предотвращают порчу фарша.

Добавки, содержащие имидазол или гистидин, эффективно предотвращают протухание фарша.

Свежий фарш имеет низкую дыхательную активность.

Ди- и трикарбоновые кислоты слабо влияют на дыхание свежего фарша.

Фарш, хранившийся сутки и более имеет высокую дыхательную активность.

Ди- и трикарбоновые кислоты ускоряют его дыхание в первую минуту, мало влияя в дальнейшем.

В присутствии имидазола дыхательная активность фарша снижена.

Она не только не активируется сукцинатом, но даже подавляется.

На говяжьем и печеночном фаршах было произведено тестирование четырех комплексных биодобавок и ряда их компонентов в трех разных биологических буферах с $pH = 7,6$ при низкой и нормальной ионной силе (в присутствии и отсутствии хлористого натрия).

Определены наиболее активные компоненты, входящие в состав четырех комплексных биодобавок, применяемых для улучшения качества говяжьего фарша и увеличения срока его хранения.

Показано, что в свежем фарше наибольшая скорость NADH:тетразолиевой реакции наблюдается в фосфате, а наименьшая – в гистидине, причем, присутствие соли не влияет на скорость в фосфате и гистидине, но активирует реакцию в имидазоле.

Установлено, что после 20-часового хранения фарша наибольшая скорость NADH:тетразолиевой реакции наблюдается в гистидине, причем, соль снижает скорость.

Продемонстрировано, что дигидрокверцетин (биофлаваноид, природный антиоксидант) мало влияет на скорость NADH:тетразолиевой реакции. По-видимому, он не оказывает прямого влияния на NADH-дегидрогеназный комплекс митохондрий в клетках.

Оказалось, что наибольшая скорость сукцинат-тетразолиевой реакции имеет место в фосфатном буфере, а минимальная – в имидазольном.

Присутствие поваренной соли подавляло реакцию в фосфате, но активировало реакцию в имидазоле и гистидине.

Показана низкая дыхательная (по потреблению кислорода) активность фарша, полученного непосредственно после разморозки мяса. Это обусловлено плохим проникновением кислорода и дыхательных субстратов извне внутрь интактных клеток, а также тем, что интактные клетки плохо отделяются друг от друга, вследствие чего они лишь в небольшой степени попадают в супернатант.

При тестировании фарша, хранящегося 2 - 4 дня, обнаружено его интенсивное дыхание. При полярографии разбавленных суспензий наиболее высокие скорости дыхания наблюдались на фосфатном буфере, причем, наибольшая скорость дыхания имела место при внесении 2 мМ сукцината.

Были проведены опыты по замедлению порчи печеночного фарша некоторыми компонентами биодобавок. Показано, что одними из наиболее эффективных природных консервантов среди испытанных компонентов биодо-

бавок являются (в отношении печени) бизин и имидазол, а наименее эффективными – гистидин и дигидрокверцетин.

На третьем этапе осуществлялась разработка безнитритной технологии изготовления колбасных изделий. Проводилось выяснение важнейших условий эффективности и последовательности добавления четырех биодобавок к мясному фаршу при варьировании pH, температуры и ионной силы. Выполнялась отработка основных технологических условий изготовления безнитритных колбасных изделий. На долго хранившемся замороженном говяжьем фаршах произведено тестирование биодобавок и ряда их компонентов в разных биологических буферах.

Из полученных данных следует, например, что биодобавка № 3 позволяет на несколько дней задержать порчу фарша, приготовленного из старой (долго хранившейся в замороженном виде) говядины.

Если же применяется последовательное добавление компонентов этой биодобавки, то действие становится еще более эффективным.

Имидазол (один из компонентов) сам по себе задерживает порчу менее хорошо, чем биодобавка № 3.

Применение аскорбиновой кислоты активирует порчу (вероятно за счет активации перекисного окисления липидов).

При относительно низкой температуре (1-2°C) возвращение розовой окраски гемоглобину за счет восстановления аскорбиновой кислотой происходит медленно, в течение нескольких дней; причем, аскорбиновая кислота активирует порчу.

Выяснено, что при использовании дигидрокверцетина в качестве одного из компонентов биодобавки № 3 нужно брать такие его препараты, в которых содержание высокомолекулярных полимеров минимально. Были протестированы шесть препаратов дигидрокверцетина и среди них найден наиболее качественный, который и будет использован в дальнейшем в составе биодобавки.

При использовании очищенного низина (из бизина) на говяжьем фарше получено, что всего 1 мг низина хватает для хорошей сохранности 1 кг фарша (при 6° C) в течение недели. Представляется правильным использование в биодобавке № 3 чистого низина, а не бизина.

И низин, и дигидроацетон хорошо предотвращали порчу фарша, изготовленного из старой говядины. Однако сами по себе не удерживали pH (он смещается в кислую сторону).

Фосфат резко активирует порчу фарша, приготовленного из старой говядины.

Биодобавка № 4, предназначенная для обработки оболочек колбасных изделий, позволяет сохранять оболочку полукопченой колбасы несколько дней.

На замороженной говядине и свинине была проведена отработка условий, необходимых для производственного изготовления фарша для безнитритной колбасы и сарделек.

На замороженном говяжьем фаршах произведено тестирование биодобавки № 3 и природного красителя кармина. Показано, что биодобавка № 3 позволяет на несколько дней задержать порчу колбасного фарша, приготовленного из замороженной говядины. В отсутствие соли действие становится еще более эффективным. Во всех пробах pH в течение опыта сохраняется исходным, не происходит закисления.

Применение всех четырех биодобавок последовательно в ходе изготовления фарша для колбасы или сарделек позволяет получить достаточно долго хранящийся не портящийся продукт.

Применение биодобавки № 3 более эффективно при отсутствии соли. Сама биодобавка может храниться в растворенном виде не менее двух суток.

Применение природного красителя кармина придает дополнительную окраску фаршу, но и без кармина удается получить хороший цвет.

Использование одного только кармина (без биодобавки № 3) не дает ни хорошего цвета, ни удовлетворительной сохранности.

Введение КПБД № 3 в отсутствие хлористого натрия является предпочтительным, т.к. заметно улучшается сохранность фарша. Биодобавка № 3 без хлористого натрия позволяет сохраняться фаршу на холоду не менее 16 дней. Сделан вывод о том, что целесообразно значительно снизить количество соли в биодобавке № 3 или вообще использовать соль отдельно, после добавки.

Был предложен рецепт технических условий изготовления безнитритного фарша для колбасных изделий с применением всех четырех биодобавок (в лабораторных условиях).

Отработаны технические условия приготовления колбасного фарша из замороженной говядины с биодобавкой № 3 и природным красителем кармином.

Безнитритная технология предложена для апробирования технических условий для безнитритных сарделек (модификация рецептуры нитритных сарделек по ТУ 4213-002-58099196-03).

Разработана общая рецептура приготовления полукопченой колбасы 1-го сорта из подмороженного мяса в лабораторных условиях, приближенных к производственным.

На четвертом, заключительном этапе, осуществлялась разработка биофизических методов экспресс-контроля качества и сохранности колбасного фарша: адаптация различных инструментальных методов для анализа качества фарша и разработка методов экспресс-контроля качества и сохранности фарша. Была произведена адаптация ряда физико-химических и инструментальных методов для анализа качества и сохранности говяжьего фарша при кратком и долгом хранении.

Разработан метод использования высокочувствительного колориметрического теста на липидные перекиси в фарше с помощью реакции тиобарбитуровой кислоты с малоновым диальдегидом, образующимся при перекисном окислении липидов.

Показана решающая прооксидантная роль ионов железа в порче фарша за счет индукции перекисного окисления липидов.

Продемонстрирована активация перекисного окисления липидов в присутствии глутамата.

Для измерения мутности фарша усовершенствованы методы нефелометрии и фотометрии.

Для количественной оценки состояния белков и их денатурации предложен метод измерения флуоресценции триптофановых остатков.

Разработаны методы флуориметрического, фотометрического или pH-метрического измерения активности митохондриальной NADH-дегидрогеназы и NADH-феррицианид-редуктазы, которые могут служить адекватными тестами на сохранность фарша.

Были разработаны две модификации экспресс-метода определения перекисей липидов по малоновому альдегиду.

Можно сформулировать следующие основные выводы:

1. Все выбранные компоненты (цитрат, сукцинат, малат, кетоглутарат, оксибутират, пируват, NADH, АТФ, АДФ, АМФ, гистидин, имидазол, глутамат, аскорбат, лактат, рибофлавин, триптофан, тирозин, аргинин, лизин, глицин, гидрокарбонат, убихинон, гемоглобин, токоферол, бета-каротин, кверцетин, дигидрокверцетин, бизин, кофеин, кармин, бизин, хлорид кальция, хлорид магния, хлорид натрия и другие), входящие в состав четырех разработанных биодобавок, улучшают качество и сохранность мясного фарша.
2. Последовательное использование четырех биодобавок по разработанной технологии позволяет обеспечить длительную (до 20-30 дней) сохранность фарша в отсутствие каких бы то ни было химических консервантов, в частности – без нитритов.
3. Разработанные биодобавки чрезвычайно эффективны. Для обработки 1 кг говядины их достаточно взять всего около 10 г.
4. Обработка фарша биодобавками для более эффективного действия должна производиться не в сухом виде, а в виде концентрированной суспензии, получаемой путем предварительного их растворения в небольших объемах воды.
5. Первая биодобавка пригодна только для свежей или свежемороженой говядины, а вторая и третья биодобавки могут быть использованы для любого сырья (старая говядина, свинина, печень и др). Применение четвертой биодобавки целесообразно только для оболочек.

6. При необходимости каждая из биодобавок может быть использована по отдельности, вне технологии, но при этом эффективность действия снижается.

7. Разработаны несколько инструментальных методов контроля качества мяса и фарша, в частности – экспресс-методы.

8. Методы контроля позволяют проводить объективную физико-химическую высокочувствительную оценку состояния мяса и фарша как в первые часы хранения, так и при длительном хранении в течение многих дней.

9. Показано, что фосфат и аскорбат, добавленные в начале обработки фарша, сильно активируют его порчу.

10. Разработана общая рецептура приготовления безнитритной полукопченой колбасы.

Патент «СПОСОБ ИЗГОТОВЛЕНИЯ БЕЗНИТРИТНЫХ КОЛБАСНЫХ ИЗДЕЛИЙ» (Автор Н.Л.Векшин)



Золотые медали выставок «Архимед», «Высокие технологии XXI века» и др.
2-я премия на конкурсе «Бизнес инновационных технологий-2006».
1-я премия на Конкурсе русских инноваций в номинации «Лучшая потребительская инновация-2007».

Победитель программы СТАРТ-2007.

Грантам РФФИ-офи-а 04-04-08146 "Разработка биофизических основ безнитритных технологий производства качественной мясной продукции и ее контролируемого длительного хранения" (2004-2006).

Грант РФФИ-Миннаука 04-04-97269 p2004наукоград_a "Молекулярные аспекты митохондриальных патологий, вызванных повреждениями NADH:убихинон-оксидоредуктазы" (2004-2006).

Грант фонда Бортника СТАРТ «Разработка биофизических методов и комплексных биодобавок для изготовления безнитритного колбасного фарша» (государственный контракт № 5345 p 7762 от 21.06.2007)

Принципиальные отличия новой технологии от традиционной

Для предотвращения деструкции и прогорклости фарша и изделий из него широко используются следующие меры: охлаждение, вакуумирование, обработка нитритами, введение химических консервантов и стабилизаторов, добавление синтетических антиоксидантов и др. К сожалению, эти меры оказываются эффективными не всегда и не полностью. Откачка воздуха позволяет удалить кислород из воздушного пространства емкости, в которой хранится фарш или мясoproдукт (и частично - из межклеточного пространства), но она не удаляет тот кислород, который исходно содержится в цитоплазме клеток, в клеточных мембранах и в кровеносных капиллярах. Образование опасных активных форм кислорода при приготовлении и переработке мяса принято подавлять с помощью большого количества нитритов, обеспечивающих при этом сохранение нужной окраски (Кудряшов Л.С., Баймишев Р.Х. // ИБ Мясные технологии, 2005, N 1, с. 20). Нитриты, связываясь в фарше с гемоглобином, миоглобином, митохондриальной цитохромоксидазой и другими гем-белками, блокируют восстановление внутриклеточного кислорода до супероксида. Кроме того, нитриты обладают полезным бактерицидным действием.

Однако нитриты, химические консерванты, синтетические антиоксиданты и стабилизаторы являются далеко не безвредными веществами. Попадая с пищей в организм, они блокируют функционирование многих ферментов и гем-белков человека, приводя к ряду заболеваний, в том числе - онкологических.

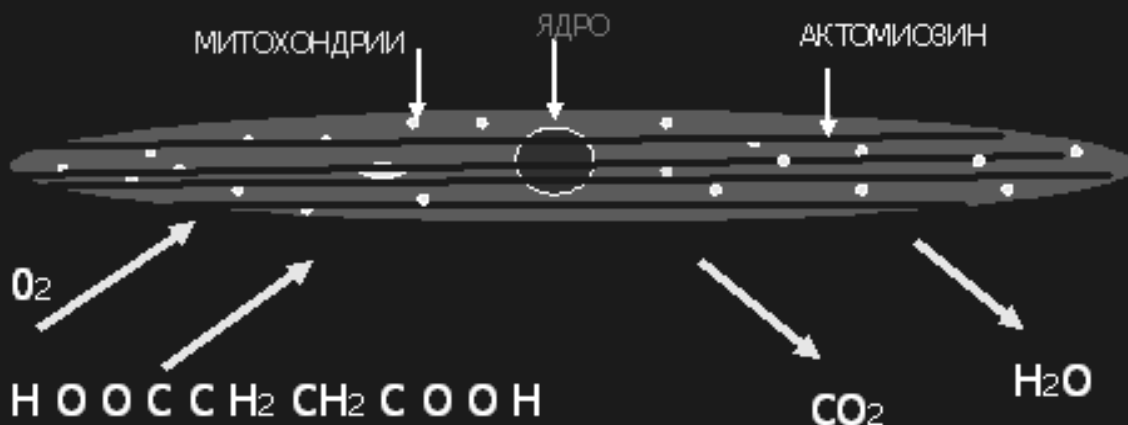


Использование фосфатов, широко практикуемое на мясокомбинатах, имеет тот недостаток, что избыточные фосфаты, как давно известно, являются ингибиторами митохондриальной сукцинатдегидрогеназы (Ленинджер А. Биохимия, 1974 с.190) и, кроме того, напрямую катализируют реакции образования свободных радикалов, индуцируемых ионами двухвалентного железа (Рощупкин Д.И. и др. в сб: Сверхслабые свечения в биологии. М., МОИП. 1972. с. 75-77). Избыточные фосфаты взаимодействуют в клетках с железобелками и свободными ионами железа. В результате образуются полимероподобные железо-фосфатные комплексы (Кулаев И.С. Неорганические полифосфаты и их физиологическая роль. М.: Наука, 1975). Они служат мощными прооксидантами, ведущими к перекисному окислению липидов, к "незримой" порче фарша и мясопродуктов. Причем, особенно опасно для потребителя то, что количество липидных перекисей задолго до ощутимого прогоркания может быть столь велико, что, попадая с пищей в организм, они вызывают лавину свободно-радикальных цепных реакций в клетках человека и наносят здоровью огромный вред.

Нитриты, химические консерванты и фосфаты в небольших количествах, казалось бы, не слишком токсичны, но, попадая в организм, они неизбежно срабатывают как "мины замедленного действия". Это постепенно ведет к утрате здоровья и многим тяжелым заболеваниям. Отметим, что доза нитрита натрия всего в 1 грамм для человека является смертельной.

Схема митохондриального дыхания в клетке

- Молекулярный кислород является главным агентом порчи.
- Миоглобин – основное депо кислорода.
- В мышечной клетке содержится 10 000 митохондрий.
- Митохондрии окисляют дикарбоновые кислоты.
- Митохондрии содержат убинон и токоферол.



При получении фарша быстрое окисление сукцината или аскорбата в дыхательной цепи митохондрий (и несколько более медленное окисление цитрата и альфа-кетоглутарата в цикле Кребса) сопровождается потреблением кислорода из клеточной цитоплазмы. Такие соли природных ди- и трикарбоновых кислот как сукцинат, цитрат, альфа-кетоглутарат и аскорбат являются (при физиологических концентрациях) абсолютно безвредными и нетоксичными для человеческого организма.

Предлагаемая технология имеет следующие преимущества: а) отказ от опасных нитритов, от химических консервантов и от избытка фосфатов; б) отсутствие накопления вредных перекисей; в) предотвращение микробного обсеменения; г) существенное удлинение сроков хранения; д) улучшение вкусовых качеств; е) медико-биологическая безопасность; ж) низкие затраты на изменение технологии. Подчеркнем, что для применения наших подходов нет необходимости коренным образом изменять технологический процесс.

Схема технологии



В результате применения технологии предотвращается образование активных форм кислорода, перекисного окисления липидов, деструкции белков, активации фосфолипаз и т.д. В частности, при приготовлении фарша снижается автолиз (измеренный по мутности при 540 нм), уменьшается денатурация белков (измерено по триптофановой флуоресценции при 340 нм), уменьшается повреждение мембран (измерено по снижению митохондриальной NADH-оксидазной активности), резко снижается содержание перекисей липидов (определено с помощью ТБК-теста по количеству малонового диальдегида - МДА). При замене фосфатного буфера на анти-кислородный гидрокарбонатный количество перекисей липидов уменьшается на 40%.

Было установлено также следующее. Использование глутамата является небезопасным, т.к. количество перекисей липидов в его присутствии возрастает на 40%. Наиболее вредным агентом, блокирующим митохондриальное дыхание и резко активирующим образование перекисей (на 80%), оказался оксалоацетат. Сходным действием обладали фосфаты (Векшин Н.Л. и др. // Мясной ряд, 2005, № 2, с.32).

Для получения качественного фарша нами используются четыре биодобавки из природных метаболитов - субстратов клеточного дыхания (ди- / трикарбоновые кислоты), кислород-вытесняющего буфера, антиоксидантов и олиго-пептидных протекторов.

Принципиальное отличие нашей технологии заключается в том, что впервые удалось резко улучшить качество и продлить срок хранения фарша, не прибегая к химическим консервантам, а используя только экологически чистые природные вещества и правильную последовательность введения этих веществ на стадиях мясопереработки.

Все вещества, предлагаемые нами для сохранения фарша и мясopодуктов, являются природными; причем, они в той или иной степени присущи организму человека. Большинство из этих веществ уже в какой-то форме когда-то использовались по отдельности в пищевой или медицинской промышленности и для этого сертифицировались.

При получении колбасных изделий предлагаемым способом автолиз снижается в 1,5 -2 раза, денатурация и гидролиз белков уменьшаются в 2-3 раза, на половину уменьшается повреждение мембран, а содержание перекисей липидов снижается в 3-4 раза.

Предложенная технология в разных неполных вариантах была использована для изготовления полукопченной колбасы. Изготовленная колбаса имела красно-розовый цвет, плотную и упругую консистенцию, традиционный вкус, без посторонних привкусов. Изделия были отправлены на хранение. Органолептическая оценка продукции (Табл.) на 30-й день хранения (без упаковки, при температуре 6 °С) показала, что поверхность изделий сухая, чистая; вкус традиционный, без замечаний.

Таблица. Органолептические свойства безнитритной колбасы на 30-й день хранения.

Поверхность	Цвет	Консистенция	Вкус
Сухая, чистая	красно-розовый	плотная, упругая	традиционный

Предлагаемый способ позволяет получить целевой продукт с улучшенными свойствами, обеспечивающими его длительное хранение и безопасность для потребителя.

Готовые колбасные изделия имеют лучшее качество, так как не содержат нитритов, химических консервантов, фосфатов, бактерий и перекисей липидов, вследствие чего они безопасны для здоровья потребителя.

Они характеризуются существенным увеличением сроков хранения, поскольку изготавливаются в условиях полного удаления кислорода солями ди- и трикарбоновых кислот и анти-кислородным буфером.

Они дополнительно предохранены от перекисного окисления природными антиоксидантами, а также защищены со стороны оболочки продукта специальным антибактериальным протектором.

Таким образом, предлагаемый способ позволяет улучшить потребительские качества целевых продуктов и существенно удлиняет сроки хранения при полном отказе от добавления нитритов, химических консервантов и фосфатов.

Вместе с тем, данный способ, в принципе, совместим с традиционной технологией, т.е. на конечном этапе приготовления фарша в него могут быть при необходимости внесены любые ингредиенты, традиционно используемые в производстве колбас, сарделек и сосисок.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Антипова Л.В., Глотова И.А., Жаринов А.И. Прикладная биотехнология: Учебное пособие для вузов по направлению “Технология сырья и продуктов животного происхождения”. – ВГТА, 2000. – 331с.: ил.
- Антипова Л.В., Глотова И.А., Рогов И.А. Методы исследования мяса и мясных продуктов: Учебники и учебные пособия для студентов ВУЗов. – М.: КолосС, 2004. – 571 с.: ил.
- Апраксина С.К. Использование нитрита и нитрата натрия при производстве вареных колбас длительного срока хранения // Мясные технологии, № 6 (2005), с.
- Боравский В.А. Энциклопедия по переработке мяса. – М.: Солонпресс, 2002, 455с.
- Векшин Н.Л., Шишмаков Д.А., Рябоконь Е.Н. Эффективные способы сохранения безнитритного мясного фарша и биофизические методы контроля его качества. // Мясной ряд. 2005. № 2. С.32.
- Векшин Н.Л. Новые подходы к улучшению технологии мясных продуктов. // Мясные технологии. 2005. № 7. С.3-6.
- Рябоконь Е.Н., Шишмаков Д.А., Соколова И.Б., Векшин Н.Л. Биофизические основы получения экологически чистых мясопродуктов. // Партнер-Мясопереработка. 2006. № 3. С.44-46.
- Векшин Н.Л., Шишмаков Д.А., Соколова И.Б. Тест на сохранность мяса и фарша. // Мясные технологии. 2006. № 2. С.12-15.
- Векшин Н.Л., Ревин А.Ф., Лазарева Н.В. Активация оксидазы порчу фарша снимет сразу! // Митмейкер. 2006. осень-зима. С.33.
- Векшин Н.Л., Ревин А.Ф., Лазарева Н.В. Определение перекисного окисления липидов в говядине тиобарбитуровым тестом на малоновый диальдегид. // Мясные технологии. 2007. № 3. С.44-45.
- Лазарева Н.В. Векшин Н.Л. Тест на сохранность мяса и фарша по их флуоресценции. // Мясные технологии, 2008, № 2, с.24-28.
- Векшин Н.Л. Способ изготовления безнитритных колбасных изделий. Патент РФ № 2311047.
- Векшин Н.Л. Новые подходы к улучшению технологии мясных продуктов // Мясные технологии, № 7 (2005), с.3-6.
- Векшин Н.Л. О снижении перекисного окисления липидов в мышечном гомогенате сукцинатом и аскорбатом // Тезисы докладов VII Международной конференции “Биоантиоксидант”, (2006), с. 81-82 .
- Векшин Н.Л. Флуоресцентная спектроскопия биополимеров. – Пущино: “Фотон–век”, 2006. –168с.
- Векшин Н.Л., Ломтев А.С., Шарова И.В. Флаavin и убихинон митохондриальной NADH–дегидрогеназы не участвуют в передаче электронов на искусственные акцепторы // Доклады академии наук, т.376 № 1 (2001), с.114-116.

- Векшин Н.Л., Шарова И.В. Ротенон – нечувствительное окисление NADH – дегидрогеназой фрагментов дыхательной цепи // Биофизика, т.49 № 5 (2004), с.814-821.
- Векшин Н.Л., Шишмаков Д.А., Соколова И.Б. Тест на сохранность мяса и фарша // Мясные технологии, № 2 (2006), с.12-16.
- Векшин Н.Л., Соколова И.Б., Шишмаков Д.А. Биофизические основы получения экологически чистых мясопродуктов // Мясопереработка партнер, № 3 (2006) с.44-46.
- Векшин Н.Л., Ревин А.Ф., Лазарева Н.В. Активация оксидазы порчу фарша снимет сразу! // Митмейкер, осень–зима (2006), с.33.
- Векшин Н.Л., Ревин А.Ф., Лазарева Н.В. Определение перекисного окисления липидов в говядине тиобарбитуровым тестом на малоновый диальдегид // Мясные технологии, № 3 (2007), с. 44-45.
- Виноградов А. Д. Комплекс I дыхательной цепи: структура, редокс компоненты и возможные механизмы трансформации энергии // Биохимия, т. 66 (2001), вып. 10, с. 1346-1360.
- Виноградов А. Д., Гаврикова Э. В., Гривенникова В.Г., Жарова Т. В., Захарова Н. В. Каталитические свойства митохондриальной NADH: убихинон-оксидоредуктазы (Комплекса I) / биохимия, т. 64 (1999), вып. 2, с.174–193.
- Владимиров ЮА., Арчаков А.И. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах. – М.: Наука, 1972. – 252 с.: ил.
- Горбатов В.М., Заяс Ю.Ф. Современные направления исследований в области совершенствования технологических процессов мясной промышленности // Обзорная информация. Серия: Мясная промышленность, № 20 (1975), 72с.
- Гривешникова В.Г., Виноградов А.Д. Митохондриальный комплекс I // Успехи биологической химии, т.43 (2003), с.19-58.
- Журавская Н.К., Алехина Л.Т., Отряшенкова Л.М. Исследование и контроль качества мяса и мясопродуктов. – М.: Агропромиздат, 1985.
- Каган В.Е., Орлов О.Н., Прилипко Л.Л. Проблема анализа эндогенных продуктов перекисного окисления липидов // Итоги науки и техники. Серия биофизика, т.18. М.: Винити, 1986. – 63с.
- Козлов Ю.П. Структурно-функциональные аспекты перекисного окисления липидов в биологических мембранах // Липиды: структура, биосинтез, превращения и функции. М.: Наука, 1977. – с. 80-93.
- Козлов Ю.П., Данилов В.С., Каган В.Е., Ситковский М.В. Свободнорадикальное окисление липидов в биологических мембранах. М.: МГУ, 1972. – 110с.
- Коренман Я.И., Кучменко Т.А., Смагина Н.Н. Определение степени окислительного прогоркания животного жира // Мясная индустрия, № 12 (2005), с.42-45.
- Кудряшов Л.С., Баймишев Р.Х. Перспективные разработки для отрасли. Влияние различных доз внесения нитрита натрия на качество и безопасность вареных колбас с длительными сроками хранения // Мясные технологии, № 1 (2005), с.20.

- Машанцева Н.Г., Лаптев И.А. Биотехнология для мясной промышленности // Мясные технологии, январь (2006), с. 44-45.
- Рогов И.А., Забашта А.Г., Казюлин Г.П. Общая технология мяса и мясопродуктов. – М.: Колос, 2000. – 357с.
- Стальная И.Д., Гаришвили Т.Г. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты // Современные методы в биохимии. М.: Медицина, 1977, с. 66-68.
- Тропина Г.Н. Разработка рецептур и технологии фаршевых консервов с использованием молочнобелкового концентрата // Автореферат кандидата технических наук. М.: Институт мясной и молочной промышленности, 1988. – 16с.
- Фрайфелдер Д., Физическая биохимия. Применение физико–химических методов в биохимии и молекулярной биологии. – М.: Мир, 1980. – 582с.
- Хвыля С.И., Авилов В.В., Кузнецова Т.Г. Практическое применение гистологических методов анализа // Мясная промышленность, № 6 (1994), с. 9-11.
- Храпова Н.Г. Кинетические характеристики токоферолов как регуляторов перекисного окисления липидов // Липиды: структура, биосинтез, превращения и функции. М.: Наука, 1977. – с.157-169.
- Шишмаков Д.А., Рябоконь Е.Н., Векшин Н.Л. Эффективные способы сохранения безнитритного мясного фарша и биофизические методы контроля его качества // Мясной ряд, № 2 (2005), с.32.
- Шредер В.Л., Кулик Н.В. Способы хранения в модифицированной газовой среде // Мир упаковки, № 6 (2007), с. 23-25.
- Шумаев К.Б., Гомбоева С.Б., Кухарчук В.В., Ланкин В.З., Рууге Э.К. Взаимодействие антиоксидантов и активных форм кислорода в модельных системах // Международная конференция: Митохондрии, клетки и активные формы кислорода. – Пущино, 2000. – 179 с.
- Bidlack W.R., Tappel A.L. Fluorescent products of phospholipids during lipid peroxidation // Department of food science and technology, 1973.
- Dillard C.J., Tappel A.L. Fluorescent products from reaction of peroxidizing polyunsaturated fatty acids with phosphatidyl ethanolamine and phenylalanine // Department of food science and technology, 1973.
- Galante Y. and Hatefi Y. // № 53, Meth. Enzymol, p. 15-21.
- Groote D. Y. The meat of products and their a benefit for a health // The world of food ingredients, № 6, p. 16-19.
- Guenebaut V., Vincentelli R., Mills D., Weiss H. and Leonard K.R. // J. Mol. Biol., №265, p.409-418.
- Hiroshi Ohkawa, Nobuko Ohishi, Kunio Yagi. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction // Analytical biochemistry, № 2 (1995), p.351- 358.
- Walker J.E. // Rev. Biophys, № 25, p. 253-324.
- Yagi K. A simple fluoremetric assay for lipoperoxide in blood plasma // Biochemical medicine, 15 (1976), p.212-216.

Codex Alimentarius. Food additives and contaminants, (CODEX STAN 192-1995) p.1 НИИ питания РАМН

Федеральный закон «О санитарно-эпидемиологическом благополучии населения» от 30.03.1999 г. N 52-ФЗ

Федеральный закон «О качестве и безопасности пищевых продуктов» от 02.01.2000, N 29-ФЗ

Федеральный закон «Основы законодательства Российской Федерации об охране здоровья граждан» от 22.07.1993

СанПиН 2.3.2.1293-03 «Гигиенические требования по применению пищевых добавок» — с 12 июня 2003 года — PDF RTF

1 2 3 4 5 6 7 Петрухина А. Из чего мы состоим? Из того, что мы едим... Наука и жизнь, № 1 (2009), стр. 26-29.

<http://www.rg.ru/2005/03/02/e216-dok.html> Постановление Главного государственного санитарного врача Российской Федерации от 18 января 2005 г. N 1 г. Москва "О запрещении использования пищевых добавок"

Сарафанова Л.А. Пищевые добавки: энциклопедия / Л.А. Сарафанова, Изд. 2-е.- СПб.: Изд.-во Гиорд, 2004.- 808 с.

Оценка некоторых пищевых добавок и контаминантов. 41 доклад объединенных экспертов ФАО/ВОЗ по пищевым добавкам, Женева. — М: «Медицина», 1994 г. — 72 с.

Оценка некоторых пищевых добавок и контаминантов. 37 докладов объединенных экспертов ФАО/ВОЗ по пищевым добавкам, Женева. — М: «Медицина», 1974 г. — 48 с.

Петрухина А. Из чего мы состоим? Из того, что мы едим... Наука и жизнь, № 1 (2009), стр. 26-29.

Принципы оценки безопасности пищевых добавок и контаминантов в продуктах питания. — М.: «Медицина», 1991 г. — 158 с.

Росивал Л. и др. Посторонние вещества и пищевые добавки в продуктах. — М.: «Лег. и пищ. пром.», 1982 г. — 264 с.

Химия пищевых добавок: Тезисы докладов Всесоюзной конференции. Черновцы. — Киев: НПО «Пищевые добавки», 1989 г. — 256 с.

Штейнберг А. И. и др. Добавки к пищевым продуктам (Гигиенические требования и нормирование). — М.: «Медицина», 1969 г. — 95 с.

Фейнер Г. Мясные продукты. Научные основы, технологии, практические рекомендации. Из-во «Профессия», 2010.