МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования
«**Дальневосточный государственный технический
рыбохозяйственный университет**»
(ФГБОУ ВО «Дальрыбвтуз»)

На правах рукописи

ЕСИПЕНКО РОМАН ВЛАДИМИРОВИЧ

НАУЧНОЕ ОБОСНОВАНИЕ И РАЗРАБОТКА ТЕХНОЛОГИИ ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТОВ НА ОСНОВЕ БИОКОНВЕРСИИ ДВУСТВОРЧАТЫХ МОЛЛЮСКОВ И МОЛОЧНОЙ СЫВОРОТКИ

Специальности:

05.18.04 – Технология мясных, молочных и рыбных продуктов и холодильных производств;

05.18.07 – Биотехнология пищевых продуктов и биологически активных веществ

Диссертация на соискание ученой степени
кандидата технических наук

Научный руководитель:
д. б. н., профессор
Н. Н. Ковалев

Владивосток – 2017

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ 4
ГЛАВА 1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ 10
1.1 Двустворчатые моллюски – запасы, возможность добычи и переработки 10
1.2 Технохимическая характеристика двустворчатых моллюсков 12
1.3 Биологически активные пептиды из моллюсков и их использование при разработке технологии функциональных продуктов питания 20
1.4 Молочная сыворотка и ее использование в технологии пищевых продуктов . 27
ГЛАВА 2 НАПРАВЛЕНИЯ, ОБЪЕКТЫ, МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ..... 31
2.1 Направления исследований, объекты и материалы 31
2.2 Методы исследований 33
ГЛАВА 3 РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ 37
3.1 Технохимическая характеристика моллюсков……..... 37
3.2 Определение рациональных параметров ферментативного гидролиза сырья 51
3.2.1 Определение степени ферментолиза в зависимости от концентрации фермента 51
3.2.2 Зависимость степени ферментолиза от гидромодуля 54
3.2.3 Обоснование рационального времени ферментолиза 56
3.3 Определение рациональных параметров ферментолиза сырья с внесением молочной сыворотки..... 60
3.3.1 Определение влияния объема молочной сыворотки на характеристику состава продукта 60
3.3.2 Определение влияния молочной сыворотки на степень ферментолиза мягких тканей моллюсков 62
3.4 Исследование состава сухих ферментолизатов мягких тканей моллюсков и молочной сыворотки 64
3.4.1 Определение содержания белка и пептидов в ферментолизатах моллюсков 64

3.4.2 Определение содержания свободных аминокислот в ферментолизатах моллюсков в зависимости от способа внесения молочной сыворотки 68
3.5 Разработка и обоснование принципиальной схемы получения сухих ферментолизатов моллюсков 80
3.6 Биологическая ценность ферментолизатов моллюсков 84
3.6.1 Определение общей биологической ценности 84
3.6.2 Антирадикальная активность ферментолизатов моллюсков 92
3.7 Обоснование и разработка технологии пищевых ферментолизатов моллюсков и продуктов на их основе 94
3.7.1 Обоснование и разработка технологии сухих первых блюд на основе ферментолизатов моллюсков 94
3.7.2 Разработка рецептуры и технологии галет 105
3.8 Расчет экономической эффективности производства ферментолизатов моллюсков 110
ЗАКЛЮЧЕНИЕ 113
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ 120
ПРИЛОЖЕНИЯ 145
Приложение А: Патент № 2580157 Способ получения пищевого продукта, обладающего биологически активными свойствами из гидробионтов 146
Приложение Б: Акт о внедрении технологии ферментолизатов моллюсков и сухих первых блюд на их основе 148
Приложение В: Стандарт организации «Гидролизат из двустворчатых моллюсков» 150
Приложение Г: Стандарт организации «Сухие первые блюда «Морской обед»» 151
Приложение Д: Стандарт организации «Галеты «Арктика М»» 152

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования. Согласно современным литературным данным, двустворчатые моллюски содержат уникальные биологически активные вещества различной природы, являющиеся основой для создания функциональных пищевых продуктов (Давидович, 2001; Киселев, 2002; Гришин, 2004а; Grienke, 2014). В настоящее время пищевые продукты на основе двустворчатых моллюсков рекомендуются для коррекции ряда патологических состояний организма человека (Тутельян, 1999). Помимо пластической функции, биологически активные компоненты тканей моллюсков принимают участие в ряде важных биохимических процессов, в том числе антирадикальной защите организма человека (Нечаев, 2003; Пивненко, 2015а).

Особенности химического состава двустворчатых моллюсков позволяют рекомендовать их в качестве источника для получения БАД (Пивненко, 1997).

Качество и безопасность пищевых продуктов остаются главными проблемами современной пищевой индустрии. В связи с этим одним из направлений решения данных проблем является создание новых, безопасных, органолептически привлекательных продуктов здорового питания, удовлетворяющих потребностям организма человека в полноценном белке, аминокислотах, витаминах, минеральных веществах, полиненасыщенных жирных кислотах.

Степень разработанности темы. В водах Дальнего Востока России наиболее массовыми являются зарывающиеся виды двустворчатых моллюсков – клемы (спизула, корбикула, мерценария). Промышленная переработка этих двустворчатых видов моллюсков практически отсутствует из-за трудоемкости процесса переработки, его низкой рентабельности вследствие малого выхода съедобных тканей, недостаточного развития технологий глубокой переработки. Исследованиями в области технологии переработки двустворчатых моллюсков занимались: Т.Н. Пивненко, Н.М. Купина, Л.В. Шульгина, В.А. Мухин, О. Битютская, О.В. Табакаева, О.Я. Мезенова, В.В. Воробьев, Е.В. Лихачева, Д.Ю. Проскура, Т.К. Каленик, В.Ф. Толкачева, U. Grienke, D.S. Bhakuni, D.S. Rawat и др. Несмотря на то что

уже разработан ряд технологий получения консервированной продукции из двустворчатых моллюсков (Швидкая, 1998; Мухин, 2002; Давлетшина, 2007; Лаженцева, 2008), основная часть добываемых моллюсков экспортируется в страны АТР.

Научный и практический интерес к двустворчатым моллюскам обусловлен их огромным потенциалом для технологий функциональных продуктов питания и биологически активных веществ. Исследования в этой области направлены в основном на качественную и количественную оценку содержания белков, липидов, и углеводов (Давидович, 2006; Климова, 2010; Ковалев, 2013а; Купина, 2015).

В отличие от программ поиска вторичных метаболитов как потенциальных лекарств, которые обычно направлены на исследование определенного класса веществ, изучение биоактивных первичных метаболитов – область исследований многих научных дисциплин – часто сопровождается отсутствием целевой стратегии анализа исследования.

Учитывая значительные объемы добычи двустворчатых моллюсков, отсутствие промышленной переработки клем, потенциальную значимость биоактивных метаболитов, представляется перспективным их использование как сырьевого источника для разработки технологий функциональных продуктов питания, пищевых ингредиентов и нутрицевтиков.

Одним из перспективных направлений переработки являются технологии ферментолизатов из двустворчатых моллюсков. Однако высокое содержание не усваиваемых организмом белков в мягких тканях моллюсков не позволяет получать продукты, сбалансированные по аминокислотному составу. Дополнительная нутрификация продуктов белковыми компонентами может быть достигнута путем включения в технологический процесс в качестве сырья молочной сыворотки. Молочная сыворотка характеризуется рядом функционально-технологических свойств, таких как: высокая осмоляльность, кислотность, вязкость, высокая растворимость сывороточных белков в широком диапазоне значений pH, что обусловливает рациональность ее применения в технологии производства функциональных продуктов питания.

В составе сыворотки белковые вещества составляют 23 % и могут служить дополнительным источником аминокислот (Гунькова, 2015). В составе белков сыворотки имеются все незаменимые аминокислоты, которые находятся в количествах, соответствующих их содержанию в «идеальном белке» (Кисиль, 2006; Остроумов, 2006). Поэтому дополнительное вовлечение в пищевой рацион белков молочной сыворотки, как вторичного сырья, является актуальным.

Широкая сырьевая база, потребности рынка и отсутствие эффективных технологий переработки – все это определяет актуальность разработки новых биотехнологических подходов переработки моллюсков.

Целью диссертационной работы являлось научное обоснование технологии комбинированных пищевых продуктов функциональной направленности на основе ферментативного гидролиза сырья морского и наземного происхождения.

Для решения поставленной цели были сформулированы следующие задачи:

– изучить химический состав и обосновать использование всех мягких тканей моллюсков в качестве сырья для получения пищевых продуктов функциональной направленности;

– разработать технологию ферментолизатов мягких тканей моллюсков с использованием молочной сыворотки, определить их химический состав;

– определить антирадикальную активность, общую биологическую ценность обогащенных ферментолизатов моллюсков, обосновать их функциональную направленность;

– разработать рецептурные композиции функциональных пищевых продуктов (бульон, сухие первые блюда и галеты), включающих в качестве пищевого ингредиента ферментолизаты моллюсков, исследовать химический состав, показатели качества и безопасности;

– разработать техническую документацию на ферментолизаты мягких тканей моллюсков с использованием молочной сыворотки, продукты на основе ферментолизатов, оценить экономическую эффективность от внедрения разработанной технологии;

– апробировать разработанную технологию в промышленных условиях, получить опытные партии ферментолизатов моллюсков с использованием молочной сыворотки, охарактеризовать их химический состав, физико-химические показатели и безопасность.

Научная новизна работы. Впервые проведено комплексное исследование размерно-массовых характеристик и технохимического состава всех мягких тканей трех видов двустворчатых моллюсков Японского моря. Обоснован способ их биоконверсии. Впервые определены рациональные параметры ферментативного гидролиза всех мягких тканей моллюсков. Охарактеризован состав ферментолизатов мягких тканей моллюсков по содержанию белка, пептидов и аминокислот. Впервые научно обоснован способ обогащения ферментолизатов двустворчатых моллюсков молочной сывороткой. Показано, что ферментолиз гомогената мягких тканей моллюсков в присутствии молочной сыворотки позволяет получать продукты по составу и содержанию свободных аминокислот, соответствующих идеальному белку. Установлено, что антирадикальная и общая биологическая ценность обогащенных ферментолизатов определяется их составом. Определено дозозависимое влияние ферментолизатов моллюсков на рост и развитие хлебопекарных дрожжей (Saccharomyces cerevisiae). Обосновано применение ферментолизатов моллюсков в технологии продуктов функциональной направленности на примере производства сухих первых блюд и галет.

Теоретическая и практическая значимость работы. Теоретическая значимость заключается в научном обосновании использования молочной сыворотки в технологии ферментолизатов мягких тканей двустворчатых моллюсков и технологии комбинированных пищевых продуктов функциональной направленности.

Практическая значимость. Разработана технология ферментолизатов всех мягких тканей двустворчатых моллюсков с использованием молочной сыворотки (СТО 00471515-057-2017). Новизна технического решения подтверждена патентом РФ (№ 2580157). Разработаны и утверждены проекты технической документации на сухие первые блюда «Морской обед» (СТО 00471515-058-2017) и галеты

«Арктика М» (СТО 00471515-059-2017) с использованием ферментолизатов моллюсков (см. Приложения).

Определены показатели качества, безопасности, пищевая и биологическая ценность разработанных продуктов функционального назначения. В производственных условиях выпущена опытная партия ферментолизатов, результаты подтверждены актом.

Основные положения, выносимые на защиту.

1. Мягкие ткани двустворчатых моллюсков (клем), без разделки, являются источником биологически активных пищевых компонентов – свободных аминокислот, пептидов, в том числе небелковых аминокислот.

2. Разработанная технология комплексной переработки мягких тканей моллюсков и вторичного молочного сырья обеспечивает получение ферментолизатов как самостоятельного продукта и как компонента для изготовления пищевых продуктов, обогащенных свободными аминокислотами и пептидами.

3. Рациональные параметры биоконверсии мягких тканей моллюсков и молочной сыворотки, безопасность и биологическая ценность ферментолизатов обосновывают их применение для расширения ассортимента пищевой продукции функциональной направленности.

Личное участие автора в 2011–2017 гг. состояло в разработке программы и задач исследования, выборе методик их решения, проведении экспериментальных исследований и анализе полученных результатов, разработке пакета нормативных документов на продукты, в проведении апробации разработанных технологий в производственных условиях, подготовке всех публикаций по теме исследования, в формулировании цели и задач научной работы, разработке схемы исследований, проведении аналитических испытаний, анализе полученных данных и изложении результатов.

Достоверность результатов исследования подтверждена планированием количества экспериментов, необходимых и достаточных для достижения надежности P = 0,85–0,95, при доверительном интервале Δ ± 10 %; статистическую обработку данных проводили методом регрессионного анализа с использованием

Microsoft Office Excel 2010, Harvard Graphics 98, программных обеспечений Agilent ChemStation и Agilent MassHunter Workstation.

Апробация результатов. Основные результаты работы представлены и обсуждены на Международной научно-технической конференции студентов, аспирантов и молодых ученых «Комплексные исследования в рыбохозяйственной отрасли» (Владивосток, 2012, 2014); II и IV Международной научно-технической конференции «Актуальные проблемы освоения биологических ресурсов Мирового океана» (Владивосток, 2012, 2016); Международной научно-технической конференция «Инновации и современные технологии пищевых производств» (Владивосток, 2013); Международной научно-практической конференций «Проблемы бизнеса и технологий в Дальневосточном регионе» (Находка, 2013); Международной научной конференции «Пищевые инновации в биотехнологии» (Кемерово, 2015); Международном биотехнологическом симпозиуме «Bio-Asia – 2015» «Биотехнология и общество в XXI веке» (Барнаул, 2015).

Публикации. По материалам диссертации опубликовано 20 научных работ, в том числе 5 статьей в рецензируемых журналах из списка ВАК Российской Федерации. По результатам исследований получен патент РФ 2580157 «Способ получения пищевого продукта, обладающего биологически активными свойствами из гидробионтов»

Структура и объем диссертации. Диссертационная работа изложена на 152 странице, состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов, результатов и обсуждения, заключения, выводов, списка использованных источников (243 источника, в том числе 99 иностранных) и приложений. Работа содержит 54 таблицы, 11 рисунков.

ГЛАВА 1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 Двустворчатые моллюски – запасы, возможность добычи и переработки

Двустворчатые моллюски – одна из наиболее широко распространенных и богатых численностью и биомассой групп морских животных, входящих в состав подавляющего большинства донных биоценозов. Эта многочисленная и многообразная группа беспозвоночных обитает в Мировом океане и в его краевых морях, встречаясь от приливо-отливной зоны до глубочайших океанических желобов (Nakano, 2012). Во многих местах своего обитания двустворчатые моллюски достигают высокой численности и биомассы. С каждым годом интенсивность их использования возрастает, и в настоящее время среди морских беспозвоночных эта группа по объему вылова занимает первое место: в 1990 г. общий объем добычи всех двустворчатых моллюсков превысил 4 800 000 т, в то время как вылов ракообразных составил 4 600 000 т (FAO yearbook, 1990). Основными промысловыми видами моллюсков в РФ являются мидия и гребешок, вылов которых по данным отчетной статистики в 2015 г. составил соответственно 8700 и 13086 т. Однако, например, на шельфе Камчатки, где обитает около 130 видов двустворчатых моллюсков (Евсеев, 2006), эти виды, а особенно зарывающиеся формы, в сколько-нибудь значительном масштабе не используются.

В прибрежных водах Приморского края к недоиспользуемым видам относят зарывающихся моллюсков (клем), наибольшее промысловое значение среди которых имеют мерценария, спизула и корбикула.

Среди сублиторальных двустворчатых моллюсков Приморья по количеству видное место занимает сравнительно крупный моллюск мерценария Стимпсона (*Mercenaria stimpsoni)*, которая наряду с другими видами двустворчатых моллюсков входит в группу малоизученных потенциально промысловых объектов.

Промысловые скопления мерценарии обнаружены в прибрежных водах Приморья от зал. Посьета на юге до зал. Владимира на севере, максимальные плотности поселения вида отмечены на глубинах от 1 до 45 м (Колпаков, 2004). Мерце-

нария также обитает у п-ова Корея, у южного Сахалина, на Южно-Курильском мелководье и у о. Итуруп, в прибрежных водах Татарского пролива, а также у о. Хоккайдо и северного побережья Хонсю. На северо-западном побережье Тихого океана (восточное побережье северной Америки, включая северное побережье Японии, юг Кубы) имеются скопления родственных видов *Mercenaria mercenaria* и *M. campechiensis*. По оценкам разных лет, для жизнедеятельности мерценарии наиболее благоприятны песчаные участки дна на глубине свыше 7 м (Колпаков, 2004). Размерные структуры поселений мерценарии имеют преимущественно мономодальный характер с преобладанием промысловой части (75–100 %), пополнение молодью происходит нерегулярно (Колпаков, 2004). В летний период половозрелые особи мерценарии совершают активные горизонтальные перемещения. В результате ко времени нереста на ограниченных по площади участках на глубине 12–20 м достигается высокая плотность поселений (до 32 экз./м^2), что способствует успешному воспроизводству. Несмотря на невысокие темпы роста биомасса мерценарии в некоторых бухтах северного Приморья может превышать 500 т. Промысловый запас этого моллюска в южной части подзоны Приморье составляет 13,748 тыс. т, в северной – 12,266 тыс. т (Седова, 2007).

В настоящее время мерценарию в живом виде экспортируют в страны АТР, так как в России отсутствуют эффективные способы переработки и актуальные данные о безопасности, пищевой и биологической ценности. Таким образом, запасы мерценарии в Приморском крае позволяют ее изъятие и переработку.

Спизула сахалинская (*Spisula sachalinensis*) – один из доминирующих видов инфаунных моллюсков верхней сублиторали прибрежных вод Приморья, часто является доминирующей формой биоценоза. Основные ресурсы вида сосредоточены в зал. Петра Великого. Площадь поселений спизулы в зал. Петра Великого составляет 2658 га, у северного Приморья – 907 га, общий запас – соответственно 12101 и 841 т. Общая картина локализации основных поселений спизулы в водах Приморья не претерпела существенных изменений по сравнению с 1930-ми и 1970-ми гг. (Соколенко, 2008).

В отечественной литературе имеются данные о видовом составе рода корбикула в водах от Сахалина до юга Приморского края (Затравкин, 1987). На юге Дальнего Востока богатейшим местом по запасам корбикулы (*Corbicula japonica*) является бассейн р. Раздольной. Запас корбикулы в бассейне реки и ее притоках оценивается в 80 000 т (Явнов, 2000).

Промысловые скопления моллюска формируются в распресненных участках моря с соленостью до 2,6 ‰. Максимально установленный возраст составляет 5 лет при длине раковины 23,5 мм (Явнов, 2000).

Линейный рост моллюска описывается уравнением Берталанфи, возрастает с увеличением суммы эффективных температур среды обитания (Алимов, 1974). От температуры также зависят скорость и эффективность нереста (Baba, 1999). Скорость обмена веществ моллюсков экспоненциально зависит от их массы. Статистически достоверные различия были найдены в метаболических показателях моллюсков, имеющие равную массу, но относящимся к разным таксонам. Корбикула характеризовалась самым низким уровнем метаболизма по сравнению с другими моллюсками, например, дрейссеной (Алимов, 1975). При этом коэффициент фильтрации у моллюска составляет приблизительно 500 мл/ч/моллюск (Basack, 1998).

Промысловый запас корбикулы во внутренних водоёмах Приморья составляет 10,712 тыс. т. При этом около 84 % промыслового запаса корбикулы сосредоточено в р. Раздольной.

Анализ научной литературы показал, что запасы спизулы, мерценарии и корбикулы в прибрежных водах тихоокеанского побережья России позволяют организовать их промышленный вылов.

1.2 Технохимическая характеристика двустворчатых моллюсков

Масса и размеры двустворчатых моллюсков варьируют в очень широких пределах. Эти характеристики зависят от вида и условий местообитания моллюска.

Масса дальневосточных промысловых моллюсков составляет от десятков граммов, при среднем размере 7–15 мм, характерных для *C. japonica*, до нескольких сотен граммов у устриц (Явнов, 2002; Li, 2015; Kasai, 2006).

Отличительной особенностью двустворчатых моллюсков является низкий выход мягких тканей из-за наличия массивной раковины. Моллюски больших размеров характеризуются более высокой массой мягких тканей. Так, масса мягких тканей спизулы, выловленной в разных частях зал. Петра Великого (Японское море), различалась на 4–5 % (Киселев, 2002). Отмечается, что прирост массы тела моллюсков более высокий при обитании в более благоприятных условиях, а темп наращивания массы раковин остаётся почти без изменений (Киселев, 2005).

Пищевое значение имеют различные части тела двустворчатых моллюсков. У зарывающихся моллюсков это двигательный мускул (нога), мантия и аддуктор (мускул-замыкатель). У свободноживущих моллюсков, например, гребешка приморского, съедобными частями являются только мускул-замыкатель и гонады. При существующих технологиях первичной переработки гонады гребешка, мантия, как правило, направляются в отходы.

Более мелкие моллюски, такие как корбикула японская, для изготовления пищевых продуктов (отваров) используются в целом виде (Пат. РФ 2219805). У мидий и устриц в пищу идут все мягкие ткани.

Массовая доля съедобных частей у двустворчатых моллюсков зависит от возраста, места обитания и сезона вылова. Ранее было установлено, что массовая доля съедобных частей спизулы варьирует от 13,6 до 23,5 % от массы особи и зависит от места и времени вылова (Киселев, 2005). Этот показатель сравним с таковым для приморского гребешка и мидии обыкновенной. По данным И.В. Кизеветтера (1962), масса съедобных тканей гребешка составляет от 21,4 до 30,5 %; мидий (все мягкие ткани) – от 17,0 до 49,0 %. Также следует отметить, что масса съедобных тканей двустворчатого моллюска (нога, мантия, мускул-замыкатель) анадары Броутона (*Anadara broughtoni*), обитающей в тех же биотопах, что и спизула, составляет от 20,1 до 28,3 % (Зюзьгина, 2001).

При вариации значений массы тела от 40 до 350 г масса съедобных частей тела мерценарии (нога и мускул-замыкатель с аддуктором) зависит от возраста моллюска и составляет 12–16 %, а масса отходов (раковины и печень) — 70–75 % общей массы (Есипенко, 2015а; Ковалев Н.Н., 2015; Купина, 2015). Масса мягких тканей у мерценарии промыслового размера (5,5 см) в зависимости от возраста колеблется от 15,6 до 27,0 % общей массы (Купина, 2015).

Массовая доля раковины двустворчатых моллюсков может достигать 85 % от массы особи (Скарлато, 1981; Кафанов, 1991; Атлас..., 2016). В среднем масса створок у мерценарии составляет 65–68 %, у спизулы – от 58 до 72 % массы тела. По этому показателю мерценария значительно отличается от анадары, у которой масса раковины в среднем составляет 49–58 % (Зюзьгина, 2002; Киселёв, 2005).

Раковины двустворчатых моллюсков состоят в основном из минеральных веществ, которые представлены на 96–98 % карбонатом кальция, и 2–4 % приходится на соли магния, натрия, калия, алюминия, железа (Кизеветтер, 1962, 1973; Караващенко, 1986).

Химический состав мягких тканей двустворчатых моллюсков зависит от возраста, пола, степени половой зрелости и во многом определяется условиями существования вида (Касьянов и др., 2001). В связи с этим вариации количественного содержания белка в мягких тканях двустворчатых моллюсков составляют от 5,0 до 20,0 % (Справочник..., 1999).

Отметим, что содержание белка в разных тканях моллюсков также различается. Так, в свежей мерценарии массовая доля белковых веществ варьирует в тканях ноги от 8,6 до 9,3 %, в мантии — от 9,1 до 9,8 %. В то же время различия в количественном содержании белка в мускуле-замыкателе (16,5 %) и мантии (9,7 %) гребешка более выражены (Климова, 2010). Общее содержание белка у разных видов моллюсков, выраженное на сырую ткань, варьирует в пределах 14,7–20,7 % (Mizuta, 2000; Гришин, 2004; Битютская, 2012; Ковалев, 2013а; Табакаева, 2016).

Особенностью биохимического состава мышечных тканей двустворчатых моллюсков является низкое содержание липидов, количество которых не превышает 2,5 % от сырой ткани (Справочник..., 1999).

Исследование состава жирных кислот двустворчатых и брюхоногих моллюсков выявило присутствие неметилированных ЖК (22:2), количество которых отличалось от вида к виду (от 0,7 до 20,7 %). Особенностью ЖК-состава является высокий уровень мононенасыщенных ЖК. Так, в липидах *Anadara broughtoni* содержание 22:2 достигало 20,7 % (Zhukova, 1986).

Основными классами липидов, присутствующих в мидии, являются эфиры стеринов, триглицериды, свободные жирные кислоты (насыщенные и ненасыщенные), каротиноиды, стерины и полярные липиды (Sukumaran, 2010). В коммерческом препарате Липринол, созданном на основе липидов мидии, выявлено 90 жирнокислотных компонентов (Lee, 2008). Основными ЖК-компонентами препарата были ЭПК — 13 % и ДКГ — 21 % (Murphy, 2002). Считается, что омега-3 ПНЖК, полученные из рыбы и моллюсков, являются более эффективными по биологической активности чем ЖК растений (Chan, 2009).

Проведенные исследования показали наличие большого количества ПНЖК n-3. Превалирующими ЖК являлись 20:5n-3 и 22:6n-3, содержание которых в тканях моллюсков в сумме составляло 37,5 %. Интересно отметить, что количественное содержание в тканях 20:5n-3 значительно различалось у разных видов, тогда как уровень 22:6n-3 оставался почти постоянным (Жукова, 1992; Силина, 2007).

У морских моллюсков содержание аминокислот значительно выше, чем у пресноводных, что объясняется их участием в регулировании осмотического баланса. Для тканей морских моллюсков характерно высокое содержание глутаминовой и аспарагиновой кислот, аланина, глицина, серина, аргинина и циклических аминокислот (Давидович, 2001, 2006). Белки мускула и мантии гребешков содержат все незаменимые аминокислоты. В составе незаменимых аминокислот приморского гребешка преобладают фенилаланин и валин, мидии – лизин и лейцин, устрицы – цистеин и тирозин (Справочник..., 1999). Доля незаменимых аминокислот в составе белков очень высока и достигает у анадары 42 %. Среди них преобладают лизин и лейцин (Купина, 2003). Белки ноги и мантии мерценарии имеют высокую пищевую и биологическую ценность, так как содержат все незаменимые

аминокислоты в количествах, превышающих в 1,2–2,3 раза величины, установленные ФАО/ВОЗ (Ковалев, 2013а; Купина, 2015).

Общее содержание углеводов в двустворчатых моллюсках невелико и зависит от времени вылова. В летние месяцы количество углеводов может достигать 6 % (Справочник..., 1999). В то же время на примере спизулы показано постоянство углеводного состава в течение летне-осеннего периода (Купина, 2015). Наибольшее содержание углеводов обнаруживается в печени в виде гликогена.

Углеводы двустворчатых моллюсков в первую очередь представлены полисахаридами. Эти сахара состоят из моносахаридов, связанных через гликозидные связи, образующие линейную или разветвленные макромолекулы (средний молекулярный вес $1{,}5 \cdot 10^6$ Да). В некоторых случаях сахара ковалентно связаны с полипептидной цепью белков клеточной стенки. Это так называемые гликопротеины, играющие важную роль в иммунной системе беспозвоночных (Smital, 1998). Так, была показана высокая иммуномодулирующая активность митилана – разветвленного протеогликана из мидии Грея (Ovodova, 1992).

Ченг с соавторами (Cheng, 2010) провели оценку воздействия нескольких методов экстракции (с помощью воды, кислой или щелочной экстракции) на антиоксидантную активность полисахаридов мидий. Была выявлена дозозависимая антиоксидантная активность для всех экстрактов мидий, причем щелочные экстракты проявляли бóльшую антиоксидантную активность.

Проведенный анализ литературных данных показал, что съедобные ткани двустворчатых моллюсков характеризуются низким содержанием липидов и углеводов, а белки полноценны по составу незаменимых аминокислот. Показатели химического состава моллюсков варьируют в зависимости от места обитания и сезона вылова, что обусловливает необходимость учитывать эти данные при разработке технологии их использования.

Анализ фактического питания и оценка пищевого статуса населения в различных регионах России свидетельствуют о том, что рацион питания россиян характеризуется избыточным потреблением жиров животного происхождения и

легкоусвояемых углеводов, и в то же время для большинства населения рацион питания существенно дефицитен в отношении полиненасыщенных жирных кислот (омега-3 и омега-6), растворимых и нерастворимых пищевых волокон (пектин, камеди слизи, целлюлоза и др.), витаминов (группы В, Е и др.), широкого спектра витаминоподобных веществ природного происхождения (L-карнитин, убихинон, холин, метилметионинсульфоний, липоевая кислота и др.), макроэлементов (кальций и др.), микроэлементов (йод, железо, селен, цинк и др.) (Тутельян, 2004а, б).

В последние годы существенным достижением концепции оптимального питания явились новые данные о биологической роли многих микронутриентов, которые ранее или рассматривались лишь с точки зрения их опасности для здоровья, например некоторые микроэлементы (селен), или вообще не рассматривались в качестве факторов, необходимых для жизнедеятельности человека (ванадий, бор, кремний, германий и др.). В настоящее время для многих из них доказано участие в целом ряде метаболических процессов и, следовательно, их необходимость присутствия в рационе питания (Тутельян, 2004в).

На основе принципов доказательной медицины получены новые данные и в отношении биологической роли для человека так называемых минорных биологически активных веществ. Это прежде всего относится к таким биологически активным соединениям, как:

– различные группы флаваноидов (флаванолы и их гликозиды – кверцетин, кемферол, рутин и др.; флавоны – лютеолин, апигенин и др.; флавононы – нарингенин, гесперидин и др.; дигидрофлаванолы, проатоцианидины, катехины и др.), физиологические функции которых чрезвычайно разнообразны и важны для снижения риска развития многих широко распространенных в настоящее время заболеваний;

– индолы, одной из важнейших функций которых является регуляция активности ферментов первой и второй фаз метаболизма ксенобиотиков и протекторная роль в отношении некоторых форм онкологической патологии;

– экзогенные пептиды и отдельные аминокислоты пищевого происхождения и их смеси, участие которых в регуляции функций органов и систем доказано многочисленными исследованиями зарубежных и отечественных ученых (например, пептиды, обеспечивающие специфическое межмолекулярное взаимодействие с промоторными участками генов, присутствуют в качестве фрагментов в составе целого ряда полипептидов – интерлейкинов, цитостатина, тиреоглобулина и др.);

– органические кислоты (янтарная, яблочная, гидроксилимонная и др.);

– фенольные соединения (гидрохинон, арбутин, гидроксикоричные кислоты и др.), обладающие специфическим биологическим влиянием на разнообразные функции организма и отдельные метаболические процессы в целом (Тутельян, 2004б).

Дефицит этих пищевых веществ и биологически активных компонентов в рационе приводит к снижению резистентности организма к неблагоприятным факторам окружающей среды (маладаптации), формированию иммунодефицитных состояний, нарушению функции систем антиоксидантной защиты, хронизации болезней, повышению риска развития распространенных заболеваний, снижению качества жизни и эффективности лечебных мероприятий (Тутельян, 2004б).

Согласно современным литературным данным, морские беспозвоночные (двустворчатые моллюски, голотурии, трепанги, морские ежи и др.) содержат уникальные биологически активные вещества различной природы, являющиеся основой для создания лечебно-профилактических пищевых продуктов или лекарственных средств. Препараты, полученные из беспозвоночных, в частности из двустворчатых моллюсков, нетоксичны, способны ускорять выведение из организма радионуклидов, обладают антиокислительной активностью и используются как разрешенные пищевые добавки (Пивненко, 2015б).

Основную долю азотистых экстрактивных соединений мышечной ткани беспозвоночных животных составляют аминокислоты и родственные им соединения (гистидиновые дипептиды) и креатин. Из беспозвоночных наиболее высокое содержание свободных аминокислот, в том числе и незаменимых, обнаружено в

тканях двустворчатых моллюсков (Suarez-Jimenez, 2012). Для тканей двустворчатых моллюсков характерно высокое содержание глицина, аланина, серина, аргинина и циклических аминокислот. Установлено, что доминирующими аминокислотами мышечных белков являются глутаминовая и аспарагиновая. Состав незаменимых аминокислот следующий: моноаминокислоты — 11–130 мг/100 г, диаминокислоты — 12–23 мг/100 г, серосодержащие — 2,22 мг/100 г, циклические аминокислоты — 9,29 мг/100 г; состав заменимых аминокислот: моноаминокислоты — 26–860 мг/100 г, моноаминодикарбоновые — 49–280 мг/100 г, диаминокислоты — 15–240 мг/100 г, циклические аминокислоты — 20–42 мг/100 г (Давидович, 2006).

Среди незаменимых аминокислот моллюсков особого внимания заслуживает таурин, дефицит которого вызывает функциональные расстройства, зрительной и нервной системы. Таурин является регулятором деятельности желчной и инсулиновой систем, осморегулятором, веществом, связывающим холестерин, гепатопротектором и антиоксидантном. Количественное содержание таурина в мягких тканях морских беспозвоночных значительно варьирует. Так, содержание таурина в тканях головоногих моллюсков изменяется от 15,9 до 92,5 мкг/г, в брюхоногих моллюсках — от 12,5 до 58,0 мкг/г, а в тканях двустворчатых моллюсков — от 2,6 до 68,1 мкг/г (Аюшин, 2001).

Значительные запасы двустворчатых моллюсков (мерценария, спизула, корбикула) в территориальных водах России, отсутствие эффективной технологии их переработки, низкий выход съедобных частей после разделки, особенности химического состава, обусловливающие жесткую структуру мышечной ткани, определяют необходимость разработки способов их биоконверсии. Вовлечение в технологический процесс всех мягких тканей моллюсков целиком будет способствовать повышению эффективности переработки двустворчатых моллюсков.

Исходя из представленных литературных данных двустворчатые моллюски могут являться перспективным сырьем для получения концентратов аминокислот и функциональных пищевых продуктов, поскольку содержат в своем составе широкий спектр биологически активных веществ.

1.3 Биологически активные пептиды из моллюсков и их использование при разработке технологии функциональных продуктов питания

Повышение уровня знаний о влиянии диеты на здоровье человека наряду с государственной политикой в области технологий способствовало развитию инновационных производств продуктов массового спроса (Biesalski, 2009). В частности, знания об активности натуральных биологически активных экстрактов или отдельных соединений, полезных для здоровья человека, способствовало развитию нового направления исследований в науке о питании.

Осознание факта, что пищевой источник и форма пищи могут повлиять на улучшение здоровья человека, инициировало разработки новых классов продуктов питания, известных как функциональные пищевые продукты (Honkanen, 2009).

Концепция функциональных продуктов питания направлена на улучшение общего состояния организма и уменьшение риска возникновения заболеваний (Siró, 2008). Концепция базируется на постулате, что биоактивные вещества, присутствующие в природных источниках, могут не только являться пищевыми добавками, но и повышать биологическую и пищевую ценность продуктов. Биологически активные компоненты морского происхождения имеют значительный потенциал в качестве функциональных пищевых ингредиентов, поскольку они характеризуются физиологическими и терапевтическими эффектами.

Морской мир, благодаря своему феноменальному биоразнообразию, является богатым природным ресурсом биологически активных веществ, таких как полиненасыщенные жирные кислоты (ПНЖК), стерины, белки, полисахариды, антиоксиданты и пигменты. Многие морские организмы живут в экстремальных условиях и при адаптации к экологической обстановке производят широкий спектр вторичных метаболитов, которые невозможно найти в других организмах. Кроме того, учитывая большое таксономическое разнообразие, исследования, связанные с поиском новых соединений, спектр биологически активных веществ из морского сырья можно рассматривать как практически неограниченный (Rasmussen, Morrissey, 2007; Plaza, 2008)

Пищевые ингредиенты на основе морского сырья могут быть получены из множества источников, в том числе из морских растений, микроорганизмов и губок, каждый из которых содержит свой уникальный набор биомолекул (Rasmussen, 2007). Однако доказательство, что эти биоактивные вещества естественного происхождения имеют определенную пользу для здоровья, является дискуссионным в исследованиях по питанию. Особенно это касается компонентов, оказывающих умеренный профилактический эффект. Это означает, что действие веществ на организм человека может быть весьма незначительным в течение относительно короткого периода, но может внести значительный вклад в здоровье, когда они потребляются на протяжении долгого времени как часть ежедневного рациона (Biesalski, 2009). Поэтому в настоящее время широко обсуждается вопрос о роли биологически активных соединений в качестве функциональных пищевых ингредиентов для профилактики и лечения хронических заболеваний.

Увеличение числа научных работ, опубликованных в последние два десятилетия, о важности диеты при реабилитации и лечении некоторых хронических заболеваний показало возможность использования функциональных продуктов для коррекции и улучшения здоровья человека. Как следствие, в настоящее время отмечается значительный интерес среди потребителей и производителей к пищевым продуктам, содействующим укреплению здоровья и качества жизни человека (Plaza, 2008). Морские гидробионты представляют собой во многом неиспользованный резерв биоактивных ингредиентов в качестве функциональных пищевых ингредиентов. Такие вещества, как хитин, хитозан, омега-3 жирные кислоты, каротиноиды, витамины и минералы, биологически активные пептиды и низкомолекулярные белки рыб, полученные методом гидролиза, обеспечивают профилактические эффекты: снижение риска ИБС, канцерогенеза и воспалительных заболеваний (Rasmussen, 2007; Kadam, 2010).

Важным элементом открытий в области функциональных продуктов питания является определение молекулярной мишени, выбранной для модуляции. Биоактивные вещества пищи, направленные на профилактику заболевания или замедление прогрессирования заболевания, частично совпадают по направлению

действия с фармацевтическими субстанциями, мишенью действия которых являются ферменты, рецепторы или транскрипционные факторы. Кроме того, биологически активные вещества, которые поддерживают клеточный гомеостаз, также могут входить в состав пищевых продуктов (Schwager, 2008).

В последние годы наблюдается значительное количество исследований, направленных на разработку методов получения биоактивных пептидов и их использование в качестве ингредиентов функционального питания, которые способствуют поддержанию здоровья, или в качестве потенциальных препаратов для лечения хронических заболеваний.

Как правило, в аминокислотной последовательности белка пептиды неактивны. Биоактивные пептиды обычно включают 2–20 аминокислотных остатков, однако, сообщается о биологической активности пептидов длиной более 20 аминокислотных остатков (Erdmann, 2008).

Гидролиз белка – метод, позволяющий получить пептиды из пищевых источников белка с различной биологической активностью. Гидролиз обеспечивает разрыв пептидной связи и последующее поколение пептидов или свободных аминокислот при адекватном уровне контроля хода процесса (Vioque, 2001).

Ферментативный гидролиз проводят под контролем pH и температуры, что позволяет недопустить образования нежелательных продуктов (Vioque, 2001). Для проведения ферментативного гидролиза используют пищеварительные и микробиальные протеазы, в том числе трипсин, пепсин, химотрипсин, панкреатин, пепсин, термолизин и другие ферменты (Соловьёва, 1994, 1998; Korhonen, 2006). Кроме того, проводимые исследования показали, что ферментативный гидролиз повышает антиоксидантную активность получаемых гидролизатов (Aleman, 2011a, b).

Гидробионты являются важным источником пищевого белка во всем мире. В научной литературе присутствует значительное количество публикаций, посвященных биологической активности гидролизатов «морских» белков. Известно, что пептиды, присутствующие в белковых гидролизатах, проявляют

биологическую активность, которая зависит от их молекулярного веса и состава аминокислот. Сырые гидролизаты подвергают фракционированию на отдельные фракции пептидов с использованием различных методов, таких как ВЭЖХ или гельпроникающая хроматография (Wang, 2010; Hsu, 2011; Jumeri, 2011).

Ферментативный гидролиз пищевых белков является эффективным способом получения биоактивных пептидов, так как пептиды, полученные в результате этого процесса, имеют разную активность, что позволяет проводить направленный процесс получения продукта с заданными свойствами. К настоящему времени данный подход был реализован при получении пептидов из морского сырья с потенциальной антиоксидантной и антипролиферативной активностью (Mendis, 2005; Picot, 2006; Kim, 2007; Aleman, 2011a).

Наиболее распространенным сырьем для получения гидролизатов являются отходы первичной переработки сырья. Количество и качество такого сырья зависит от вида гидробионта, а также от способов заготовки и обработки сырья (Gildberg, 2002; Rustad, 2011).

Серьезной проблемой для производителей продуктов питания является утилизация побочных продуктов от переработки сырья. Переработка отходов мало привлекательна для производителей продуктов питания из-за низкой экономической стоимости продукции, такой как корм для животных. В то же время ряд опубликованных исследований свидетельствуют о перспективности использования вторичного сырья для производства биологически активной продукции, в том числе пептидов.

Так, биологически активные пептиды были получены из такого ферментативно гидролизованного вторичного сырья, как кости рыб (Centenaro, 2011), отходов креветки (Dey, 2012), голов тунца (Ovissipour, 2009), внутренностей скумбрии (Kumar, 2011). Кроме того, гидролизат из отходов переработки сардинеллы оказался хорошим источником пептидов, обладающих высокой антиоксидантной активностью (Bougates, 2010). В научной литературе представлен ряд исследований в области ферментативного гидролиза коллагена или желатина для производства биоактивных пептидов. В качестве сырьевых

источников представлены кальмары, желатин кожи тунца и других видов рыб, а также голотурии и желетелые (Aluko, 2012). Полученные из упомянутых источников ферментативные гидролизаты проявляли антиоксидантную активность, определенную методом уменьшения потенциала ионов Fe (FRAP) и гашения активности ABTS радикала (Aleman, 2011a).

Использование антиоксидантов в пищевых продуктах обусловлено их способностью защитить организм от молекул, известных как активные формы кислорода (АФК). В живых системах АФК атакуют мембранные липиды, белки и ДНК. АФК участвуют в развитии ряда патологических состояний, поскольку окислительный стресс приводит к снижению регенеративных процессов, в том числе на уровне генетического аппарата клетки, что играет важную роль в инициации канцерогенеза (Jumeri, 2011).

Антиоксидантные пептиды были найдены в различных пищевых продуктах, в том числе водорослях (Sheih, 2010), молоке (Kamau, 2011) и ферментативных гидролизатах белка гидробионтов различного происхождения (Mendis, 2005; Kim, 2007; Theodore, 2008; Zhuang, 2009). Среди них многочисленные белковые гидролизаты рыб, которые показали антиоксидантную активность.

Антиоксидантная активность пептида определяется его способностью связывать свободный радикал α,α-дифенил-β-пикрилгидрозин (ДФПГ) и АФК. Антиоксидантный эффект гидролизатов белка морского происхождения подобен описанному для гиролизата казеина, который обладает значительной способностью ингибировать АФК (López-Exposito, 2007). В то же время гидролизаты желатинов кожи некоторых видов кальмаров (*Ommastrephes bartramii, Dosidicus gigas*) (Giménez, 2009; Koueta, 2014; Choi, 2015) и тунца также обладают значительной антиоксидантной активностью (Chen, 2010; Aleman, 2011b; Gomez-Guillen, 2011).

Пептиды желатина в основном содержат гидрофобные аминокислоты, и обилие этих аминокислот способствует высокой эмульгирующей способности за счет гидрофильно-гидрофобной перестройки пептидной последовательности (Mendis, 2005).

Механизмы действия пептидов в качестве антиоксидантов до конца не известны, но активность пептидов связывают с определенной аминокислотной последовательностью, которая включает некоторые ароматические аминокислоты и гистидин (Suetsuna, 2000; Pena-Ramos, 2004). Активность гистидин-содержащих пептидов связана с наличием имидазольной группы, являющейся акцептором протонов (Chan, 1994). Гидрофобность пептидов также является важным фактором, определяющим антиоксидантную активность благодаря увеличению доступности гидрофобных мишеней (Chen, 1998).

Структурные характеристики пептидов определяются наличием различных необычных аминокислотных остатков, которые могут быть ответственны за их биоактивность.

Кроме того, белковые гидролизаты, полученные способом ферментативной биоконверсии сырья водного происхождения, являются важным источником биологически активных пептидов. Очищенные пептиды из этих источников обладают антиоксидантной активностью и цитотоксическим действием на несколько человеческих раковых клеточных линий, таких как Хела, АГС и ДЛД-1. Проведенные исследования свидетельствуют, что использование пептидов из морских источников является перспективным для профилактики и лечения опухолевых заболеваний и что пептиды также могут быть использованы в качестве молекулярных моделей в противораковых исследованиях (Vermeirssen, 2007).

Пищевые продукты, обогащенные биологически активными пептидами, представляют собой источник компонентов укрепления здоровья. Пептиды могут образовываться во время кишечного пищеварения или могут быть получены в промышленном масштабе из растительных и животных белков, особенно молочных, соевых и рыбных (Ryan, 2011).

В последнее время отмечается рост исследований биоактивных пептидов полученных из морских организмов (табл. 1.1), в том числе охарактеризована иммунологическая, антиопухолевая активность биоактивных пептидов из различных морских животных, таких как оболочники, губки, мягкие кораллы,

моллюски, мшанки и других морских организмов (Haefner, 2003; Naqash, 2010; Jumeri, 2011). Следует отметить, что исследования биологической активности пептидов морских беспозвоночных, выполнены в том числе и для голотурий и кальмаров (Zhao, 2007; Попов, 2011; Bordbar, 2011; Беседнова, 2017).

Таблица 1.1 – Потенциальные источники пептидов и их биологическое действие

Источник пептидов	Биологическое действие	Источник данных
Мышечная ткань рыб	Ингибиторы ангиотензин-превращающего фермента	Kim, 2010; Wijesekara, 2010; Fujita, 1999
Мышечная ткань рыб	Антикоагулянты	Kim, 2010; Rajapakse, 2005
Коллаген рыб	Антидиабетическое	Zhu, 2010
Морские беспо-звоночные и рыбы	Антимикробные	Rajanbabu, 2011; Kim, 2010
Рыбы, водоросли	Антиоксиданты	Je, 2004, 2005; Sheih, 2009; Kim, 2010

Биологически активные пептиды, выделенные из морских животных, проявляют широкий спектр физиологической активности, в том числе опиоидной, агонистической, минералсвязывающей, иммуномодулирующей, антимикробной, антиоксидантной, антитромботической, гипохолестеринеми-ческой и антигипертензивной (Jimeno, 2004; Kim, 2010).

Многие из этих соединений были изолированы, синтезированы или подвергнуты химической модификации для усиления их активности (Simmons, 2005; Adrio, 2007; Shilabin, 2011; Lee, 2012).

Для получения пептидов из морского сырья используют в основном три метода – экстракция растворителями, ферментативный гидролиз и микробная ферментация морских протеинов. Однако особенно в пищевой и фармацевтической промышленности метод ферментативного гидролиза более предпочтителен вследствие отсутствия остаточных количеств органических

растворителей или токсичных химических веществ в конечных продуктах (Ryan, 2011). Щелочной гидролиз белка используется нечасто из-за рацемизации или разрушения некоторых аминокислот при высоких значениях pH (Neklyudov, 2000). С другой стороны, способ гидролиза под действием кислот также имеет ограниченное применение из-за полного разрушения триптофана 5–10 %-ной деструкцией серина и треонина и гидролиза аспарагина и глутамина до соответствующих кислот (Walker, 2002).

Таким образом, ферментативные гидролизаты моллюсков, содержащие комплекс свободных аминокислот и биологически активные пептиды, обладают антиокислительными свойствами и имеют огромный потенциал для использования в качестве компонентов функциональных продуктов питания (ФПП).

1.4 Молочная сыворотка и ее использование в технологии пищевых продуктов

В процессе промышленной переработки молока получают побочные продукты – обезжиренное молоко, пахту и молочную сыворотку. По биологическим свойствам вторичное молочное сырье не уступает цельному молоку. Причиной недоиспользования цельной молочной сыворотки является сезонность ее получения, быстрая порча, недостаточная стойкость при хранении (Мартынов, 2000)

Тем не менее в настоящее время отмечается тенденция расширения номенклатуры продуктов с использованием молочной сыворотки. Применение молочной сыворотки является важной задачей, поскольку при ее переработке может быть получено значительное количество полноценных пищевых продуктов, технических полуфабрикатов, кормовых изделий (Токаев, 2007).

Разработан ряд технологий использования молочной сыворотки при производстве желированных продуктов, мороженого, пудингов, напитков.

Молочную сыворотку используют для производства лактозы, применяемой в фармацевтической промышленности, а также при изготовлении ацидофильной бактериальной массы, поливитаминных и белок-витаминных концентратов.

В состав сухих веществ молочной сыворотки входят лактоза (71,7 %), азотистые (14,0 %) и минеральные (7,7 %) вещества, жир (5,7 %) (Омаров, 2013).

По аминокислотному составу белки творожной сыворотки являются полноценными, однако их содержание составляет всего 0,5 %. В состав белков молочной сыворотки входят такие незаменимые аминокислоты, как лейцин, изолейцин, метионин, лизин, треонин, триптофан.

Минеральный состав сыворотки в основном представлен калием 0,09–0,19 %, магнием 0,009–0,020 %, кальцием 0,04–0,11 %, натрием 0,03–0,05 %, фосфором 0,01–0,10 %, а также микроэлементами – железом, кобальтом, йодом, кремнием, германием.

Органические кислоты молочной сыворотки представлены в основном молочной и лимонной кислотами. Молочная кислота, продуцируемая из лактозы, является природным антисептиком и угнетает деятельность гнилостной микрофлоры желудка, что обусловливает диетические свойства кисломолочных продуктов.

Энергетическая ценность сыворотки составляет около 18 ккал, что обусловливает целесообразность ее использования в диетическом питании (Храмцов, 2011).

Наиболее эффективным способом уменьшения аллергенности белков молочной сыворотки считают проведение гидролиза, в результате которого образуются гидролизаты с высоким содержанием свободных аминокислот и низкомолекулярных полипептидов (Просеков, 2013).

Наибольший интерес вызывает ферментативный гидролиз, позволяющий получить гидролизаты с заданными свойствами. В зависимости от содержания аминокислот, молекулярной массы полипептидной фракции, наличия ди-, три- и олигопептидов может быть определена область наиболее эффективного использования гидролизатов (Круглик, 2007; Курбанова, 2010а).

Гидролизаты сывороточных белков используются при производстве кондитерской, хлебобулочной, мясной продукции, входят в состав напитков и заменителей женского молока благодаря высокой пищевой ценности, отсутствию горького вкуса и низким антигенным свойствам (Курбанова, 2010б).

Установлено, что использование молочных белковых добавок при производстве пищевых продуктов улучшает их органолептические показатели, увеличивает пищевую ценность готовых изделий (Нилов, 2005). Использование цельной молочной сыворотки снижает набухаемость, степень пенетрации, водопоглощающую и жиропоглощающую способности композиционных смесей (Черников, 2014). Считается, что гидролиз сывороточных белков может способствовать улучшению всех функционально-технологических характеристик пищевой добавки на ее основе (Садовой, 2005).

Таким образом, анализ научной литературы показывает, что двустворчатые моллюски составляют основную часть прибрежной малакофауны. Значительные запасы двустворчатых моллюсков и их востребованность рынком обусловливают интерес рыбоперерабатывающей промышленности к данному виду сырья. Основными видами двустворчатых моллюсков прибрежной зоны являются зарывающиеся моллюски, представленные в Приморской подзоне мерценарией, спизулой и корбикулой. В настоящее время данные виды моллюсков в промышленном масштабе не используются. Причинами недоиспользования этих объектов промысла, являются низкий выход съедобных частей и отсутствие эффективных технологий переработки.

Вследствие особенностей технохимического состава моллюсков (например, высокое содержание коллагена) на пищевые цели используются в основном только нога и мускул-замыкатель.

Повышение рентабельности технологии переработки двустворчатых моллюсков может быть достигнуто путем вовлечения неиспользуемого сырья.

Известны технологии ферментативной переработки отдельных тканей (мантия, мускул-замыкатель, гонады) двустворчатых моллюсков для получения биологически активной продукции. Ферментативный гидролиз тканей моллюсков позволяет получать продукты с высоким содержанием аминокислот.

Сведений о пищевом использовании мягких тканей моллюсков целиком в доступной нам литературе не обнаружено. В то же время вовлечение в переработ-

ку двустворчатых моллюсков, в том числе мелкоразмерных, перспективно при условии использования всех мягких тканей без предварительной разделки.

Химический, в том числе аминокислотный, состав белков двустворчатых моллюсков имеет значительные межвидовые различия и зависит от условий обитания животных (Ковалев Н.Н., 2015; Grienke, 2014; Купина, 2015).

Поскольку скор свободных аминокислот моллюсков сырца не в полной мере соответствует требованиям ФАО/ВОЗ, то повышение пищевой и биологической ценности продуктов переработки двустворчатых моллюсков возможно с использованием вторичного сырья (молочной сыворотки) методами биоконверсии.

Таким образом, обогащение ферментолизатов моллюсков белками молочной сыворотки повысит их биологическую ценность и увеличит количественное содержание аминокислот до адекватного уровня потребления.

Однако в научной литературе недостаточно освещены научные данные, позволяющие проектировать пищевые продукты на основе совместного использования белков морского и наземного происхождения, характеризующиеся повышенной пищевой и биологической ценностью. В этой связи разработка технологии таких продуктов питания является актуальной задачей.

ГЛАВА 2 НАПРАВЛЕНИЯ, ОБЪЕКТЫ, МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

2.1 Направления исследований, объекты и материалы

Методологический подход к научному и экспериментальному обоснованию создания новых комбинированных продуктов функциональной направленности включал следующее:

– анализ научной, методической и патентной литературы по вопросу современного состояния производства продукции функциональной направленности;

– постановка целей и задач исследования;

– выбор и анализ сырья для производства комбинированных продуктов;

– подбор условий ферментативного гидролиза;

– исследование состава сухих ферментолизатов;

– разработка рецептур и технологий новых видов продуктов на основе ферментолизатов двустворчатых моллюсков, обогащёнными свободными аминокислотами и пептидами;

– изучение пищевой и биологической ценности новых видов продуктов;

– разработка нормативной документации на производство новых видов продуктов на основе ферментолизатов двустворчатых моллюсков.

На рис. 1.1 представлена общая схема диссертационного исследования.

Все научно-исследовательские работы проводились в НИЦ «Морские биотехнологии» ФГБОУ ВО «Дальрыбвтуз», ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Приморском крае», ООО «ФармОушен Лаб» (г. Партизанск).

Объектами исследований служили двустворчатые моллюски, корбикула японская (*Corbicula japonica*), спизула сахалинская *(Spisula sachalinensis*), мерценария Стимпсона (*Mercenaria stimpsoni*).

Корбикула японская добыта в эстуарии р. Раздольной Приморского края в 2013–2015 гг. Средний размер особей в исследуемых выборках составлял 3 см. Для проведения экспериментальных работ использовали как не разделанный моллюск, так и гомогенат мягких тканей моллюска без разделки на органы и ткани.

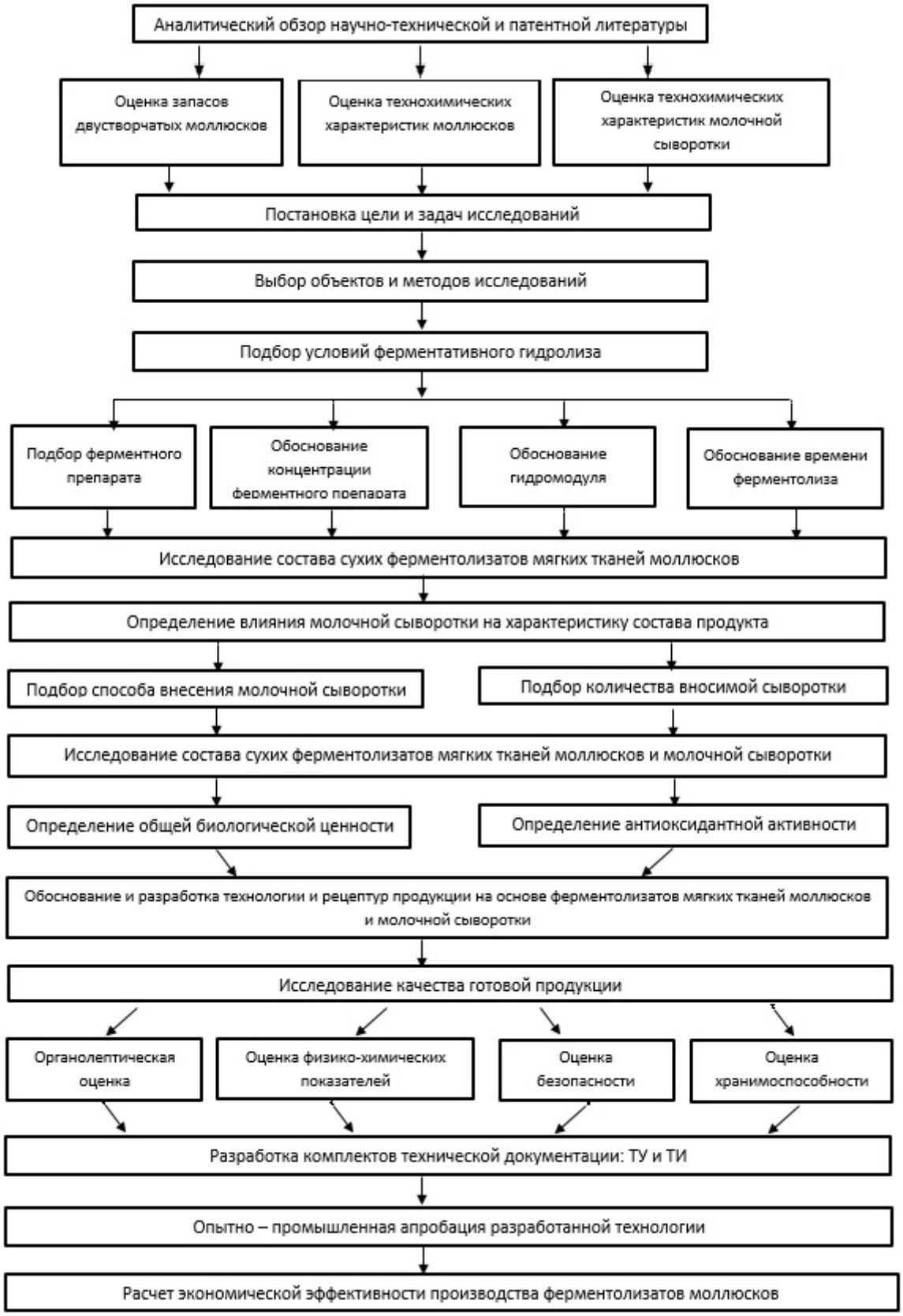

Рисунок 1.1 – Направления проведения исследований

Спизула сахалинская была выловлена водолазным способом в бухте Бойсмана Приморского края (Японское море) в 2014–2016 гг. Для проведения экспериментальных работ использовали гомогенат мягких тканей моллюска без разделки на органы и ткани.

Мерценария была выловлена в водах северного Приморья (бухта Каменка) в осенний период 2014–2015 гг. Для проведения экспериментальных работ использовали гомогенат мягких тканей моллюска без разделки на органы и ткани.

В экспериментах использовали молочную сыворотку, соответствующую ГОСТ Р 53438-2009.

В качестве ферментных препаратов для проведения ферментолиза использовали мегатерин, выделенный из клеточных культур микроорганизма *Bacillus megaterium* (ТУ № 00479942-002-94) (170 ПЕ/г), протамекс из *Bacillus protease* (Denmark) (Гигиеническое заключение № 77.99.9.916.П.15411.10.00) (670 ПЕ/г).

Объектами исследования также являлись экспериментальные образцы продукции, полученные в ходе выполненной работы (сухие ферментолизаты, сухие первые блюда, галеты), качество которых соответствовало требованиям ТР ТС № 021/2011 «О безопасности пищевой продукции».

2.2 Методы исследований

Ферментолиз мягких тканей проводили под действием ферментных препаратов протамекс (670 Е/г) и мегатерин (170 Е/г). О степени гидролиза судили по накоплению аминного азота. Содержание молочной кислоты определяли методом капиллярного электрофореза по ГОСТ Р 52841-2007.

Отбор проб для анализа проводили стандартными методами по ГОСТ 7631-85.

Содержание аминного азота определяли методом формольного титрования (Шапиро, 1976).

Определение содержания водорастворимого белка проводили по методу Лоури (Lowry, 1951).

Содержание пептидов определяли по уменьшению оптической плотности растворов после осаждения 5 %-ным ТХУ (Гаврилин, 2007).

Общий химический состав мышечной ткани, а также фракционный состав белков устанавливали по общепринятым методикам (Лазаревский, 1955).

Определение кислотности молочной сыворотки проводили по ГОСТ 3624-92.

Массовую долю коллагена определяли по содержанию оксипролина (Замараева, 1997).

Аминокислотный состав исследованных образцов определяли на аминокислотном анализаторе L-8800 («Hitachi», Япония).

Экстракцию липидов из ткани проводили по методу Фольча системой растворителей хлороформ-метанол (2 : 1 V/V) (Folch, 1957). Общее содержание липидов устанавливали гравиметрически. Метиловые эфиры жирных кислот (МЭЖК) готовили по методу Карро и Дубака (Carreau, 1978), затем анализировали на хроматографе «Shimadzu GC-14B» (Япония) с пламенно-ионизационным детектором и базой обработки данных «C–R4A». Условия анализа: температура термостата 190 °С, температура инжектора 240 °С, температура детектора 240 °С, газ-носитель – гелий. Расход газа-носителя 50 мл/мин, делитель потока 1/60. Колонка «Supelcowax-10», 30 м х 0,32 мм. Идентификацию метиловых эфиров жирных кислот проводили по индексам удерживания Ковача с использованием стандартных смесей МЭЖК от «Supelco» (США).

Содержание углеводов определяли антроновым методом после гидролиза ткани в 50 %-ном растворе КОН (Крылова, 1965).

Содержание токсичных элементов в сырье и готовых продуктах определяли в соответствии с требованиями ТР ЕАЭС № 040/2016 «О безопасности рыбы и рыбной продукции», ТР ТС № 021/2011 «О безопасности пищевой продукции») стандартными методами (ГОСТ 30178, ГОСТ 30538, ГОСТ Р 51301, МУ 01-19/47-11), а также свинца – по ГОСТ 26932, МУК 4.1.986; мышьяка – по ГОСТ Р 51766, ГОСТ 26930, ГОСТ 31628, ГОСТ 31707; кадмия – по ГОСТ 26933, МУК 4.1.986; ртути – по ГОСТ Р 53183, ГОСТ Р 54639, ГОСТ 26927, МУ 5178), используя

атомно-адсорбционный спектрофотометр «Nippon Jarrel Ash AA–855» (Япония), радионуклидов – в соответствии с МУК 2.6.1.1194.

Оценка интегральной антирадикальной активности (ИАА) антиоксидантов проводилась по их способности подавлять реакцию окисления ABTS (2'-азино-бис(3-этилбензотиазолин-6-сульфонат) аммония) пероксильными и алкоксильными радикалами, образующимися при термическом (37 ^{o}C) разложении ABAP (2, 2'-азобис (2-аминопропан) гидрохлорид) (Bartosz, 1998). Состав реакционной смеси: 0,1 М фосфатный буфер pH 7,0; 50 мМ ABTS; 200 мМ ABAP. Измерения проводили при длине волны 414 нм. Величину активности рассчитывали с помощью калибровочного графика, построенного по тролоксу. Измерения проводили на спектрофотометре Shimadzu UV-2550 с термостатированной ячейкой (Bartosz, 1998).

Относительную биологическую ценность (ОБЦ) определяли используя в качестве тест-организма *Tetrahymena pyriformis* методом культивирования в растворе 0,1 %-ной пептонной среды (Игнатьев, 1980) – по Инструкции по санитарно-микробиологическому контролю производства пищевой продукции из рыбы и морских беспозвоночных (1991).

Для определения органолептических показателей готового продукта с разным процентным соотношением вносимых ферментолизатов были произведены исследования по ГОСТ 5897-90.

Согласно ГОСТ 14032-68 физико-химическими показателями, определяющимися при контроле качества галет, являются влажность, кислотность, щелочность, толщина, намокаемость, а также массовая доля золы, сахара и жира.

Определение влажности галет производили с помощью прибора К.Н. Чижовой согласно ГОСТ 5900-73.

Кислотность и щелочность определяли согласно ГОСТ 5670-96.

Определение намокаемости делается согласно ГОСТ 10114-80.

Определение концентрации дрожжевых клеток производили с помощью счетной камеры Горяева (Мингалеева, 2000).

Энергетическую ценность определяли исходя из данных по окислению в организме 1 г жира – 9 ккал (37,7 кДж), 1 г белка – 4 ккал (16,7 кДж), 1 г усвояемых углеводов – 3,75 ккал (15,7 кДж). Расчёт проводили на 100 г съедобной части пищевого продукта (Барановский, 2013).

Микробиологические исследования объектов и материалов, а также продукции в процессе её изготовления и хранения проводили согласно МУК 4.2.1847-04 Санитарно-эпидемиологическая оценка обоснования сроков годности и условий хранения пищевых продуктов, в соответствии с установленными требованиями (ТР ТС 021/2011).

Определение микробиологических показателей сырья (подготовка проб для микробиологического исследования по ГОСТ 26668-85) и готовых продуктов включало выявление в нормируемых навесках следующих микроорганизмов: количество мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов (ГОСТ 10444.15); присутствие бактерий группы кишечных палочек (ГОСТ 31747); сульфитредуцирующих клостридий (ГОСТ 29185); *Staphylococcus aureus* (ГОСТ 31746), *Bacillus cereus* (ГОСТ 10444.8), *Clostridium perfringens* (ГОСТ 10444.9), рода Salmonella (ГОСТ 31659) и *Listeria monocytogenes* (ГОСТ 32031), дрожжей и плесневых грибов (ГОСТ 10444.12).

Экономическая эффективность была выявлена путем расчета калькуляции себестоимости продукции (Савицкая, 2003).

Результаты исследований подтверждались их воспроизводимостью в промышленных условиях и обработкой методами статистического анализа с использованием Microsoft Office Excel 2010, Harvard Graphics 98, программных обеспечений Agilent ChemStation и Agilent MassHunter Workstation.

Результаты представлены в виде средних значений трех повторов с расчетом стандартного отклонения.

ГЛАВА 3 РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

3.1 Технохимическая характеристика моллюсков

Для разработки рекомендаций по использованию двустворчатых моллюсков необходимо определить пищевую и биологическую ценность мягких тканей. При выборе способа использования моллюсков большое значение имеет не только химический состав, но и соотношение частей тела.

В ранее проведенных исследованиях было показано, что при разделке мерценарии выход съедобных частей составляет 12–16 % (Ковалев Н.Н., 2015). Однако для расчета материальных потоков необходимо учитывать размерно-массовые характеристики объекта переработки и всех компонентов содержимого ракушки. Для этого нами проведено определение размерно-массовых характеристик мерценарии и выход мягких тканей при разделке (табл. 3.1).

Таблица 3.1 – Размерно-массовая характеристика мерценарии Стимпсона

Размер, мм	Общая масса, г	Масса мягких тканей, г	Масса гемолимфы, г	Масса раковины, г
47–71 / 59	31–125 / 78	4–20 / 12	1–25 / 13	22–98 / 60

Примечание. Здесь и далее в числителе – диапазон показателей; в знаменателе – среднее значение ($p \leq 0,05$).

Проведенное определение показало, что основную долю массы моллюска составляет раковина (около 77 % массы), а на долю мягких тканей приходится около 15 % от массы моллюска-сырца. Отметим, что значительную, сопоставимую с массой мягких тканей, долю массы моллюска составляет внутриполостная жидкость – около 16 %. Полученные данные свидетельствуют, что достоверных различий в массе мягких тканей без разделки и съедобных частей моллюска не выявлено. Поэтому дальнейшие исследования проводились на мягких тканях моллюска целиком без разделки на отдельные органы и ткани.

Спизула сахалинская, добытая в летний период, представлена довольно крупными моллюсками со средней массой 193,3 г, половину массы которых составляет раковина (табл. 3.2). Масса мягких тканей спизулы составляет порядка 27,6 % от общей массы, а полостной жидкости (гемолимфы) – 19,7 % от массы моллюска-сырца.

Таблица 3.2 – Размерно-массовая характеристика спизулы сахалинской

Размер, мм	Масса, г	Масса мягких тканей, г	Масса гемолимфы, г	Масса раковины, г
71,3–97,1 76,9	97–282 193,3	28–72 53,3	13–68 36,7	48–133 99,8

Примечание: $p \leq 0,05$.

Корбикула японская, выловленная в устье р. Раздольной, была представлена особями массой от 5,0 до27,5 г с длиной раковины от 12 до 46 мм (табл. 3.3).

Таблица 3.3 – Размерно-массовый состав корбикулы

Размер, мм		Общая масса, г	Масса мягких тканей, г	Масса раковины, г
Длина	Ширина			
27,5–39,5 32,6	27,0–35,5 30,2	9–19 11,9	3–8 4,4	4–12 7,5

Примечание: $p \leq 0,05$.

Масса содержимого ракушки (внутриполостная жидкость, мягкие ткани) составляла от 28 до 40 % к массе особи. На долю мягких тканей (мускул, мантия, печень, жабры) от общей массы моллюска приходилось 35–55 %. Выход мягких тканей при разделке моллюска не превышал 22 % от общей массы моллюска.

Таким образом, результаты проведенного исследования показывают, что моллюски значительно различаются по размерно-массовым характеристикам. Наиболее крупными размерами характеризуется спизула сахалинская, наименьшими – корбикула. В соответствии с размерами моллюски различались и по мас-

се мягких тканей. Однако для полной характеристики моллюсков как сырья для дальнейшей переработки важно знать количественный выход мягких тканей после разделки. Проведенные расчеты показывают, что выход мягких тканей для мерценарии составляет 15,4 %, для спизулы – 27,6 %, а для корбикулы – 37,0 % от общей массы моллюсков. Однако, несмотря на высокий выход по массе мягких тканей корбикулы, в силу трудоёмкости и затратности процесса разделки на отдельные органы целесообразно направлять ее на обработку целиком, в раковине. Перед процессом ферментолиза корбикулу в раковине измельчали на молотковом дробильном аппарате.

Химический состав мягких тканей моллюсков

Знание химического состава моллюсков предопределяет возможные направления его переработки.

Результаты исследований химического состава мягких тканей исследованных моллюсков свидетельствуют, что они сильно обводнены (табл. 3.4).

Таблица 3.4 – Общий химический состав мягких тканей моллюсков, %

Образец	Вода	Белок	Углеводы	Липиды	Минеральные в-ва
Мерценария	86,5±0,2	8,3±0,2	1,3±0,1	2,5±0,1	1,20±0,10
Спизула	80,4±0,2	5,2±0,1	1,3±0,1	2,2±0,1	1,20±0,10
Корбикула	87,0±0,2	4,0±0,1	3,6±0,1	2,8±0,1	0,80±0,01

Массовая доля воды в мягких тканях моллюсков превышает 80 %. Следует отметить, что наименьшее количество воды содержится в мягких тканях спизулы. Количественное содержание белковых веществ в мягких тканях исследованных моллюсков значительно различалось. Так, в мягких тканях мерценарии количество белка в 1,6–2,1 раза больше, чем соответственно у спизулы и корбикулы.

Массовая доля углеводов в мягких тканях мерценарии и спизулы составляет 1,3 % от массы тканей. В то же время содержание углеводов у корбикулы было в

2,8 раза больше, чем у других рассмотренных видов, что, по-видимому, связано с выловом моллюска в летний период, характеризующийся повышенным накоплением гликогена в печени моллюска.

Отметим, что содержание воды в тканях исследованных моллюсков намного выше, чем в мускуле гребешка (73 %) (Климова, 2010).

Среднее содержание липидов в мягких тканях моллюсков варьирует в пределах 2,2–2,8 %. В то же время литературные данные (Isay, 1984; Sasaki, 1999; Hanuša, 2009; Basen, 2011) свидетельствуют о том, что низкое содержание липидов (около 1 %) является отличительной особенностью мягких тканей двустворчатых моллюсков. Полученные более высокие значения содержания липидов, по-видимому, можно объяснить выловом моллюсков в преднерестовый период, характеризующийся повышенным белковым и липидным метаболизмом.

Исследование химического состава съедобных тканей мерценарии показало, что доля белковых веществ в зависимости от сезона вылова колеблется в ноге в пределах 8,6–9,3 %, а в мантии – 9,1–9,8 % (табл. 3.5).

Таблица 3.5 – Химический состав и энергетическая ценность ноги и мантии мерценарии

Образец	Время вылова	Содержание, %			Энергетическая ценность, ккал
		Белок	Углеводы	Липиды	
Нога	Июнь Октябрь	9,2 ± 0,1 8,7 ± 0,1	1,3 ± 0,3 1,1 ± 0,1	0,9 ± 0,1 0,9 ± 0,4	46,0–51,3 44,3–50,3
Мантия	Июнь Октябрь	9,7 ± 0,1 9,2 ± 0,1	1,0 ± 0,1 1,0 ± 0,1	0,8 ± 0,1 0,8 ± 0,2	46,3– 51,7 46,3–50,6

Массовая доля углеводов (1,0–1,3 %) в ноге и мантии в 2–3 раза ниже, чем у других закапывающихся моллюсков.

Средняя концентрация липидов в ноге и мантии мерценарии не превышает 1 % (Ковалев, 2013а). Следует отметить, что полученные нами данные согласуются с данными литературы, в которых также проведено исследование технохимического состава съедобных частей мерценарии (Купина, 2015).

Результаты проведенных исследований показывают, что химический состав мягких тканей мерценарии практически не зависит от сезона вылова. По содержанию белка и липидов нога и мантия моллюска относятся к низкобелковому маложирному сырью.

Энергетическая ценность мяса мерценарии как летнего, так и осеннего уловов не превышает 52 ккал. Следовательно, мерценария может служить сырьём для производства диетических низкокалорийных продуктов.

Результаты исследований показали, что химический состав мягких тканей корбикулы непостоянен и зависит от периода вылова моллюска (табл. 3.6).

Таблица 3.6 – Химический состав мягких тканей корбикулы-сырца разного сезона вылова, %

Время вылова	Вода	Белок	Липиды	Углеводы
Июнь	81,2±0,1	4,40±0,04	3,40±0,20	4,9±0,2
Июль	83,9±0,1	4,20±0,08	2,80±0,10	4,5±0,2
Сентябрь	86,1±0,2	3,70±0,06	2,50±0,10	3,6±0,1
Октябрь	87,0±0,2	3,0±0,10	2,0±0,02	3,5±0,1
Ноябрь	87,9±0,3	2,60±0,20	2,10±0,02	2,9±0,1

Так, массовая доля белков варьирует от 2,6 до 4,4 %, липидов – от 2,1 до 3,4 %, углеводов – от 2,9 до 4,9 %. Максимальным содержанием белка (4,2–4,4 %), углеводов (4,0–4,9 %) и липидов (3,0–3,4 %) отличается мясо моллюска, выловленного в нагульный период (июнь-июль). В тканях корбикулы, выловленной осенью, концентрация этих компонентов на 30–40 % ниже. Поэтому пик активного промысла моллюска должен приходиться на весенне-летний период. Изменения химического состава тканей в апреле-июле обусловлены активизацией обменных процессов в организме в связи с ростом и интенсивными процессами биосинтеза белков в период формирования гонад, а в октябре-ноябре – снижением энергетической и физиологической активности в преддверии зимнего покоя.

По количеству белков и липидов в мягких тканях корбикула относится к низкобелковому, маложирному сырью.

Определение технохимического состава мягких тканей спизулы показало, что общее содержание коллагена составляет 1,5 %, углеводов – 1,3 %, минеральных веществ – 1,2 % от массы мягких тканей, что согласуется с литературными данными, из которых известно, что общее содержание белка в мягких тканях спизулы варьирует от 13,9 до 20,2, а углеводов от 1,4 до 6,5 % (Киселев, 2005).

Количественное содержание водорастворимых белков в мягких тканях составляет 5,2 %, из них доля саркоплазматических – 20,2 %, миофибриллярных – 12,0 % а щелочерастворимых – 42,0 % (табл. 3.7).

Фракционный состав белков спизулы показывает, что в ноге, как и в мягких тканях целиком, преобладающей фракцией является щелочерастворимая. Доля фракции соединительнотканных белков (строма) в общей сумме протеинов в ноге составляет 6,7 %. Массовая доля коллагена в общей массе белков ноги спизулы достигает 5 %.

Таблица 3.7 – Фракционный состав белков мягких тканей в тканях спизулы, % от общей массы белков

Ткань	Саркоплазматические белки	Миофибриллярные белки	Щелочерастворимые белки	Коллаген
Нога	34±4	21±4	41±5	5,0±1,0
Мягкие ткани	20±4	12±4	42±4	1,5±0,1

Особенности химического состава спизулы сахалинской, а именно высокое содержание в мягких тканях саркоплазматических и щелочерастворимых белков, коллагена, обусловливает жесткую, резиноподобную консистенцию продукции, полученной из моллюсков (Ковалев А.Н., 2015; Ковалев Н.Н., 2016а).

Исследование растворимости белков мягких тканей корбикулы-сырца позволило выявить особенности их фракционного состава. Установлено, что в отличие от большинства гидробионтов у этого моллюска среди протеинов доминируют водорастворимые белки. В общей сумме белков на их долю приходится более 61 % (табл. 3.8). При этом массовая доля солерастворимых белков не превышает

16 %. Выявленные особенности в составе белков корбикулы предопределяют большие потери водорастворимых белков при контакте мягких тканей с водой, что следует учитывать при выборе способа переработки сырья (Купина, 2012).

Таблица 3.8 – Фракционный состав белков мягких тканей корбикулы-сырца, % от общей массы белков

Саркоплазматические белки	Миофибриллярные белки	Щелочерастворимые белки	Коллаген
16,0±0,2	61,5±0,5	14,0±0,4	7,4±0,3

Особенностью фракционного состава белков мягких тканей мерценарии является равное количественное содержание водо- и щелочерастворимых белков (табл. 3.9). Подобное соотношение состава белков обусловливает жесткую структуру тканей моллюска и их значительную потерю в процессе технологической переработки моллюска.

Таблица 3.9 – Фракционный состав белков мягких тканей мерценарии-сырца, % от общей массы белков

Саркоплазматические белки	Миофибриллярные белки	Щелочерастворимые белки
18,4±0,2	32,5±0,3	31,5±0,3

Результаты, полученные другими авторами, показывают, что фракционный состав белков моллюска отличается высоким содержанием соединительнотканных и щелочерастворимых белков и низким – миофибриллярных (Купина, 2015). Выявленные особенности химического состава всех мягких тканей моллюсков (высокое содержание коллагена) определяют направление разработки технологии пищевого использования моллюсков – размягчения тканей (Есипенко, 2015б).

Аминокислотный состав мягких тканей моллюсков

У морских беспозвоночных основную долю азотистых экстрактивных соединений внутренних органов составляют аминокислоты и родственные им соединения. Наиболее высокое содержание свободных аминокислот, в том числе и незаменимых, обнаружено в тканях двустворчатых моллюсков. Для них характерно высокое содержание глицина, аланина, серина, аргинина и циклических аминокислот. Большинство из аминокислот, содержащихся в моллюсках, являются участниками белкового обмена в организме человека, оказывают значительное стимулирующее действие на его функции и необходимы в качестве питательных добавок на определенных стадиях его развития. Особенности химического состава двустворчатых моллюсков позволяют рекомендовать их в качестве источника БАД, обогащенных свободными аминокислотами, и рассматривать такие БАД в качестве антиоксидантов (Давидович, 2001; Chibuike, 2011; Liu, 2016).

Моллюски, являющиеся пойкилоосмотическими животными, регулируют свое осмотическое давление с помощью ионов приблизительно на 50 %, остальная осморегуляция происходит при помощи нескольких органических веществ, в том числе аминокислот.

В мягких тканях исследованных моллюсков отмечается высокое содержание аспарагиновой и глутаминовой аминокислот и глицина. Из незаменимых аминокислот в наибольшем количестве содержатся лейцин, лизин и валин (табл. 3.10).

Исследованные моллюски значительно различались по содержанию заменимых аминокислот в мягких тканях. Так, содержание заменимых аминокислот в мягких тканях корбикулы в 2 раза ниже, чем в мягких тканях мерценарии и спизулы. Отметим, что спизула и мерценария по содержанию незаменимых аминокислот практически не различались, в то время как содержание незаменимых аминокислот в тканях корбикулы было в 0,6–1,5 раза меньше, чем соответственно в спизуле и мерценарии. Суммарное содержание свободных аминокислот в 1 г мягких тканей корбикулы было в 1,7–1,8 раза меньше, чем в тканях мерценарии и спизулы.

Таблица 3.10 – Состав аминокислот белков мягких тканей моллюсков, мг/г ткани

Аминокислота	Корбикула	Мерценария	Спизула
Заменимые аминокислоты			
Аспарагиновая кислота	11,0	17,3	15,6
Серин	5,5	8,9	8,5
Глутаминовая кислота	11,0	21,4	20,7
Глицин	5,9	12,8	16,5
Аргинин	6,0	12,8	18,9
Гистидин	3,3	5,1	5,3
Пролин	3,2	7,5	6,1
Сумма	45,9	85,8	91,6
Незаменимые аминокислоты			
Треонин	3,7	7,0	4,7
Метионин	2,6	4,0	2,9
Валин	3,6	9,3	4,9
Изолейцин	3,7	7,2	4,4
Лейцин	6,7	12,6	7,7
Тирозин	3,9	6,3	6,4
Фенилаланин	4,4	6,5	6,4
Лизин	6,1	10,0	7,7
Цистеин	1,6	1,9	1,3
Сумма	36,3	64,8	46,4
Всего аминокислот	82,2	150,6	138,0

Примечание: $p \leq 0,05$.

Отметим, что различия по сумме аминокислот между мерценарией и спизулой (около 10 мг/г ткани) определяются в большей степени содержанием незаменимых аминокислот.

Концентрация небелковых азотистых веществ в мягких тканях корбикулы невелика. Доля азота растворимых небелковых веществ в общей массе азотистых соединений колеблется от 7,6 до 10,0 %. Полученные результаты согласуются с результатами других исследователей, установивших, что содержание свободных

аминокислот в мышцах корбикулы не зависит от сезона и определяется условиями обитания – соленостью воды внешней осмотической концентрацией (Matsushima, 1986).

Как видно из представленных данных (табл. 3.10), по содержанию свободных аминокислот мягкие ткани исследованных моллюсков значительно различались.

Так, общее содержание свободных аминокислот в мягких тканях корбикулы в 1,7–1,8 раза меньше, чем у спизулы и мерценарии. Наиболее значительные различия выявлены в содержании заменимых аминокислот. В мягких тканях мерценарии и спизулы количественное содержание заменимых аминокислот почти в два раза выше, чем в мягких тканях корбикулы. В то же время значительных различий в содержании незаменимых аминокислот в мягких тканях моллюсков не выявлено. Отмечается в 1,5 раза более высокое содержание незаменимых аминокислот в мягких тканях мерценарии по сравнению с корбикулой.

В наибольшем количестве заменимые аминокислоты мягких тканей моллюсков представлены аспарагиновой и глутаминовой аминокислотами, аргинином и аланином, незаменимые – треонином, лейцином и лизином.

Как было показано выше, общее содержание липидов в тканях исследованных моллюсков составляет 2,2–2,8 % от массы тела, и они могут быть отнесены к маложирному сырью по сравнению с тканями других двустворчатых моллюсков. Так, известно, что у беломорских мидий *Mytilus edulis* уровень общих липидов составляет от 11,6 до 23,2 мг на 1 г ткани (Кашин, 1997).

Характерной чертой липидного состава морских двустворчатых моллюсков является повышенная концентрация триацилглицеринов и полиеновых жирных кислот n-3 семейства (Pollero, 1981; Фокина, 2010).

Соотношение n-3/n-6 полиненасыщенных ЖК является одним из важных показателей, характеризующих вязкость и жидкостность биологических мембран (Хочачка, 1988; Gillis, 1999). Считается, что типичными жирными кислотами морских двустворчатых моллюсков являются пальмитиновая (16:0), стеариновая (18:0), олеиновая (18:1), линолевая (18:2n-6), линоленовая (18:3n-3), арахидоновая

(20:4n-6), эйкозапентаеновая (20:5n-3) и докозагексаеновая (22:6n-3), а также неметиленразделенные диеновые ЖК (Kawashima, 2003; Saito, 2004).

Проведенное исследование состава жирных кислот моллюсков показало, что по количественному содержанию отдельных ЖК исследованные моллюски значительно различались (табл. 3.11).

Известно, что ЖК морских двустворчатых моллюсков встречаются главным образом в связанном виде в составе эфиров холестерина, ацилглицеролов и фосфолипидов (Жукова, 2009). Состав ЖК исследованных моллюсков характеризуется высокой степенью ненасыщенности за счет ПНЖК с 2–6 двойными связями. Расчет «индекса ненасыщенности» жирнокислотного состава (соотношение НЖК/ПНЖК) тканей моллюсков показал, что наибольшим содержанием ПНЖК отличаются мягкие ткани корбикулы японской. Содержание ПНЖК в этом моллюске было в 1,7–2,6 раза выше, чем у спизулы и мерценарии.

Таблица 3.11 – Содержание жирных кислот в пучке мягких тканей моллюсков, % от суммы ЖК

Жирная кислота	Мерценария	Спизула	Корбикула
Σ насыщенных	54,19	41,65	32,06
Σ моноеновых	26,14	30,81	26,97
Σ полиненасыщ.	14,98	25,15	39,43
НЖК/ПНЖК	3,62	1,66	0,81

Показано, что фильтрующие моллюски абсорбируют из пищи и включают в свой метаболизм ПНЖК (De Moreno, 1976), но в основном жирнокислотный состав моллюсков определяется типом пищи (Хардин, 2002; Ramos, 2003; Силина, 2007). Детритный материал – это источник насыщенных и мононенасыщенных С14–С18 жирных кислот, тогда как бактериальная флора содержит в большом количестве насыщенные С 14–С 16 кислоты (Freites, 2002). Кроме того, известно, что морские простейшие – инфузории и бесцветные жгутиконосцы, которые входят в состав детрита, содержат ПНЖК (в частности, арахидоновую, эйкозапентаеновую и докозагексаеновую кислоты) и обладают способностью синтезировать эти эссенциальные липидные

компоненты (Жукова, 2009). Высокое содержание насыщенных ЖК, таких как С 20, описано у двустворчатых, распространенных в среде, богатой органическим материалом бактериального происхождения, по сравнению с теми моллюсками, которые в основном питаются фитопланктоном, в котором доминируют n-3 полиненасыщенные ЖК С 18, С 20 и С 22 (Freites, 2002).

В липидах корбикулы в наибольшем количестве представлены ненасыщенные жирные кислоты, в том числе ЭПК (9,5 %) и ДГК (12,2 %). Общее содержание насыщенных жирных кислот составляет около 33 %.

Отмечены различия содержания НЖК в тканях исследованных моллюсков. Общее содержание НЖК в тканях спизула и мерценарии в 1,3–1,7 раза больше, чем в тканях корбикулы. Выявленные различия обусловлены более высоким содержанием С 16:0 и С 18:0 ЖК в тканях моллюсков.

Проведенное исследование показало, что количественное содержание липидов в мягких тканях исследованных моллюсков невелико и не будет оказывать значительного влияния на срок хранения сырья.

Характеристика моллюсков-сырца и продукции из них по содержанию токсичных элементов является одной из главных проблем контроля безопасности. Это связано прежде всего с высокой аккумулирующей способностью этих организмов к различного рода чужеродным веществам, в том числе и катионам тяжелых металлов.

В табл. 3.12 приведены данные по содержанию токсичных элементов в мягких тканях моллюсков.

Таблица 3.12 – Средние концентрации токсичных элементов и радионуклидов в мягких тканях моллюсков

Показатель	Элемент	Норма	Спизула	Корбикула	Мерценария
Токсичные элементы, мкг/кг сырой ткани	Свинец	10	0,050±0,015	0,038± 0,015	0,014
	Мышьяк	5,0	0,107±0,036	0,340±0,030	0,04
	Кадмий	2,0	0,017 ± 0,013	0,022± 0,013	0,060
	Ртуть	0,2	0,00310 ± 0,0005	0,0029±0,0040	Не обн.
Радионуклиды, Бк/кг	Стронций-90	200	< 16,0	0 ± 9,6	15,4
	Цезий-137	100	<14,7	0 ± 12,2	13,8

Результаты определения концентрации токсичных элементов и радионуклидов в мягких тканях моллюсков показал, что они соответствуют требованиям ТР ТС 021/2011.

Определение сезонной динамики содержания токсичных элементов и радионуклидов на примере корбикулы летнего и осеннего уловов показало, что диапазон колебаний концентрации свинца в мягких тканях моллюска, выловленного в р. Раздольной, не превышает предельно допустимого уровня (0,10–0,24 мкг/г сырой ткани) (Ковалев, 2013б, 2016б).

Таким образом, проведённые исследования показали, что по содержанию в мягких тканях токсичных элементов, радионуклидов моллюски разного сезона вылова являются безопасными для организма человека.

Результаты ранее проведенного определения состава минеральных веществ показали (табл. 3.13), что в мягких тканях мерценарии доминирующими макроэлементами являются натрий и калий (Киселев, 2002). В ноге содержание калия выше, а кальция ниже, чем в мантии. По количеству магния в ноге и мантии (205–267 мкг/г) моллюск практически не отличается от гребешка приморского, а по содержанию кальция уступает ему в 4–5 раз.

Таблица 3.13 – Средние концентрации макро- и микроэлементов мягких тканей моллюсков, мкг/г сырой ткани

Элемент		Корбикула	Спизула	Мерценария
Макроэлементы	Na	2500±13	2740±33	39025±40
	K	1200±75	1070±33	1030,4 ±38,0
	Ca	235±14	133,5±18,0	131,5±13,0
	Mg	320±18	237±16	226,4±14,0
Микроэлементы	Pb	0,040±0,008	0,050±0,006	0,014±0,004
	Cd	0,022±0,010	0,017±0,003	0,060±0,002
	Cr	1,40±0,04	0,663	0,063±0,008
	Mn	1,80±0,02	0,59±0,05	0,850±0,008
	Cu	4,0±0,07	1,17±0,05	1,44±0,05
	Zn	25,0±0,05	22,10±0,04	13,10±0,04
	Fe	20,0±2,0	55,30±0,15	32,3±1,2
	Ni	1,21±0,02	0,80±0,03	0,84±0,02
	Co	0,21±0,04	0,28±0,04	0,19±0,02

Среди микроэлементов мягких тканей мерценарии и спизулы доминирующими являются железо и цинк. По содержанию в мягких тканях меди, марганца мерценария близка к другим двустворчатым моллюскам. Отмечено более высокое содержание в мягких тканях корбикулы таких макроэлементов, как магний, кальций, и более низкое содержание натрия. Обитание в эстуарии рек обусловливает более высокое содержание в мягких тканях корбикулы таких элементов, как хром, марганец, медь.

Санитарно-гигиеническая оценка мягких тканей сырца показала, что по микробиологическим показателям моллюски соответствуют требованиям ТР ТС 021/2011 (табл. 3.14).

Для оценки безопасности моллюсков разделывали, отделяя мягкие ткани, которые замораживали блоками в полимерных пакетах при температуре минус 25 ^{0}С. Мороженую продукцию хранили при температуре минус 18^{0}С.

Исследования показали, что в процессе хранения микробиологические показатели немного повышались, но их уровень после 8 мес. хранения не превышал значений, допустимых требованиями ТР ТС 021/2011.

Таблица 3.14 – Изменение микробиологических показателей (КМАФАнМ, КОЕ/г) тканей моллюсков в зависимости от срока морозильного хранения

Срок хранения, мес.	Мерценария	Спизула	Корбикула
1	$2{,}0\cdot10^3$	$1{,}2\cdot10^3$	$1{,}2\cdot10^3$
2	$2{,}2\cdot10^3$	$1{,}3\cdot10^3$	$1{,}3\cdot10^3$
4	$2{,}5\cdot10^3$	$1{,}6\cdot10^3$	$1{,}7\cdot10^3$
6	$2{,}8\cdot10^3$	$1{,}7\cdot10^3$	$2{,}0\cdot10^3$
8	$3{,}0\cdot10^3$	$2{,}0\cdot10^3$	$2{,}2\cdot10^3$
Норма по ТР ТС 021/2011	$5{,}0\cdot10^4$		

Примечание: $p \leq 0{,}05$.

Проведенные Н.М. Купиной (2015) исследования качества мерценарии-сырца продемонстрировало, что в процессе морозильного хранения продукты разделки моллюска (нога, мантия с аддуктором) не претерпевают значительного изменения технохимического состава.

Таким образом, результаты исследований показали, что замороженные мягкие ткани моллюсков сохраняет качество и являются безопасной продукцией в течение 8 мес. при температуре минус 18 ^{0}С.

Учитывая выявленные особенности технохимического состава исследованных моллюсков – высокое содержание соединительнотканных белков и коллагена, – можно прогнозировать повышенную прочность мяса моллюсков (Hiwatari, 2006). Повышение биодоступности белков моллюсков и скора свободных аминокислот в продуктах их переработки определяет направленность технологий их переработки методом ферментативного гидролиза.

3.2 Определение рациональных параметров ферментативного гидролиза сырья

3.2.1 Определение степени ферментолиза в зависимости от концентрации фермента

Одной из важных характеристик процесса ферментолиза является определение рационального количества вносимого фермента, т.е. соотношения фермент : субстрат (Пивненко, 2010). Для проведения анализа готовили пробы тканей мерценарии при гидромодуле 1 : 1 с двумя ферментными препаратами. Варьирование концентраций ферментов в пробах составляло от 1 до 8 %, что соответствовало активности протамекса от 0,4 до 3,0 Е/г ткани, а для мегатерина – от 0,2 до 1,4 Е/г ткани моллюска.

Ферментолиз проводили в течение 4 ч при температуре 37 ^{o}С. Выбор значений температуры и pH реакционной среды обосновывался согласно инструкции по применению ферментных препаратов. Инактивацию фермента осуществляли при температуре 80 ^{o}С в течение 20 мин. Полученный ферментолизат фильтровали через бязь, фильтрат сублимировали.

Для определения аминного азота в сублимате отбирали 10 мг образца и растворяли в 5 мл H_2O. Результаты определения аминного азота представлены в табл. 3.15.

Таблица 3.15 – Влияние концентрации фермента на накопление аминного азота при гидролизе мягких тканей мерценарии

Фермент	Активность, Е/г ткани	Nам, мг/мл	Фермент	Активность, Е/г ткани	Nам, мг/мл
Протамекс	0	0,047±0,002	Мегатерин	0	0,047±0,002
	0,4	0,140±0,003		0,2	0,140±0,003
	1,5	0,210±0,007		0,7	0,210±0,007
	2,0	0,280±0,014		1,0	0,280±0,014
	3,0	0,300±0,014		1,4	0,280±0,014

Примечание. Nам – аминный азот.

Результаты проведенного исследования свидетельствуют, что степень ферментолиза мягких тканей мерценарии увеличивается с возрастанием концентрации протамекса до 2,0 Е/г ткани. Дальнейшее увеличение концентрации фермента в реакционной смеси не оказывало влияния на накопление аминного азота в пробе.

В случае использования мегатерина наибольшее накопление аминного азота в пробах наблюдалось при использовании фермента в концентрации 1,0 Е/г сырья.

Проведённые исследования свидетельствуют, что при использовании в качестве сырья мягких тканей мерценарии рациональными концентрациями ферментных препаратов являются при использовании протамекса – 2,0 Е/г, мегатерина – 1,0 Е/г.

Равенство значений аминного азота при ферментолизе мягких тканей мерценарии, по-видимому, можно объяснить фермент-субстратным соотношением. Диапазон насыщающих концентраций субстрата может варьировать, при этом скорость ферментативной реакции будет постоянной и, как следствие, не будет происходить накопление продуктов реакции. Об окончании гидролиза можно было судить по отсутствию прироста аминного азота в гидролизуемой смеси.

Определение оптимальной концентрации ферментов для ферментолиза мягких тканей спизулы показало, что рациональной концентрацией протамекса является 0,5 Е/г, а мегатерина – 1,0 Е/г (рис. 3.1).

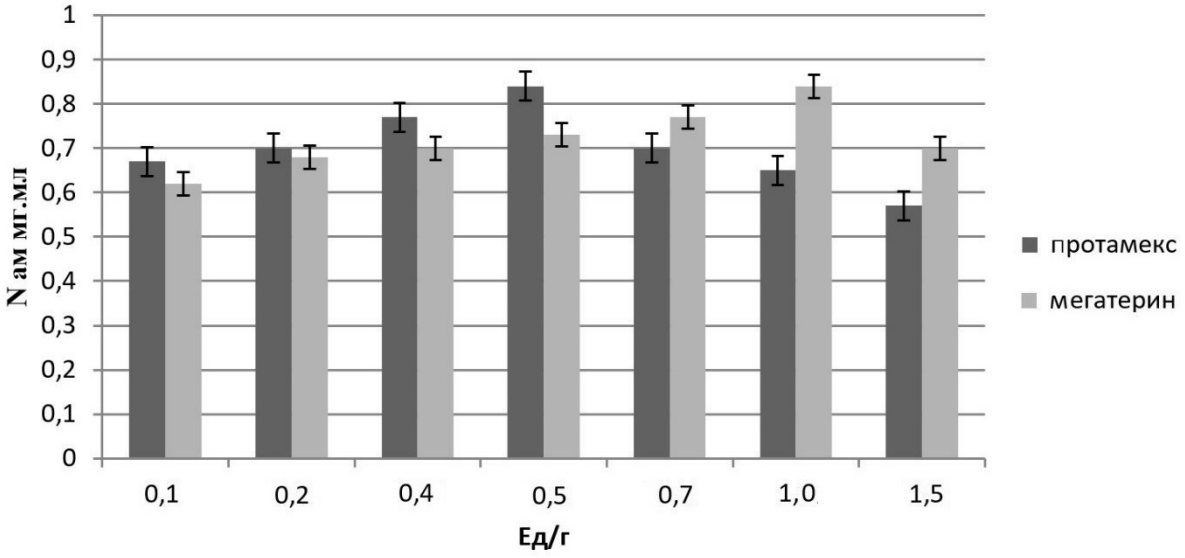

Рисунок 3.1 – Влияние концентрации фермента на накопление аминного азота при гидролизе мягких тканей спизулы

При использовании в качестве субстрата исследованных гомогената мягких тканей корбикулы было установлено, что рациональная концентрация для двух ферментных препаратов не различалась и составляла 0,5 Е/г ткани (рис. 3.2).

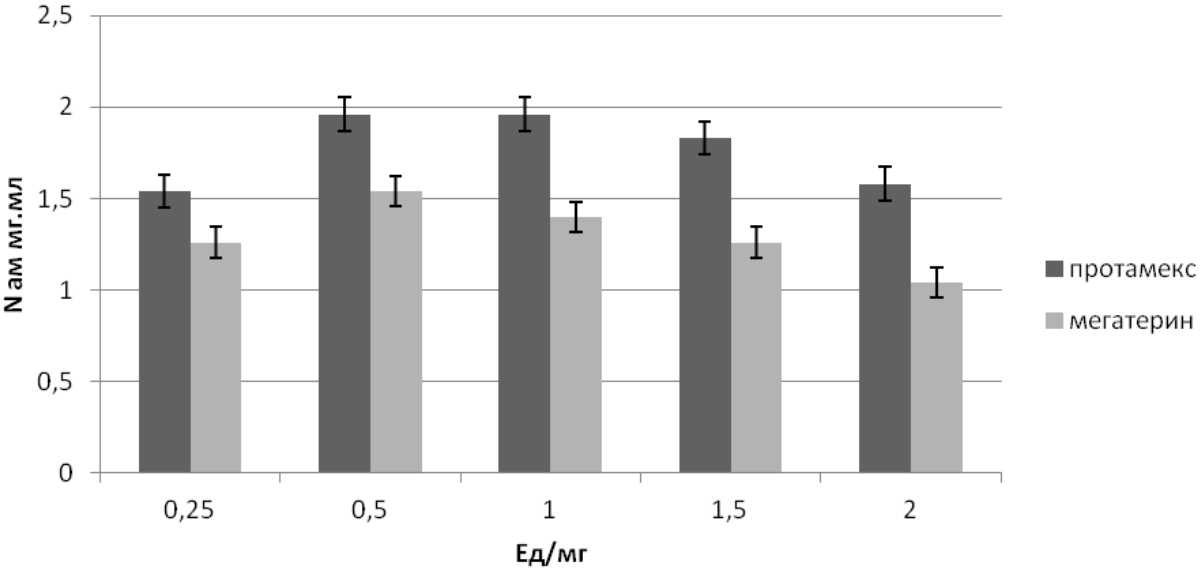

Рисунок 3.2 – Зависимость накопления аминного азота при ферментолизе мягких тканей корбикулы от концентрации ферментов

Таким образом, в результате проведенного исследования установлено, что ферментолиз мягких тканей моллюсков протекает при различных концентрациях

ферментных препаратов для каждого из исследованных видов. При меньших из использованных концентраций протамекса (0,5 Е/г) наиболее полно проходил ферментолиз тканей корбикулы и спизулы. Рациональные концентрации мегатерина для ферментолиза используемого сырья варьировали пределе от 0,5 Е/г для корбикулы до 1,0 Е/г для спизулы. По-видимому, выявленные различия объясняются составом и характеристиками белкового сырья.

3.2.2 Зависимость степени ферментолиза от гидромодуля

Скорость ферментативных реакций зависит от концентрации субстрата в реакционной смеси. Для определения рационального гидромодуля реакционной смеси готовились пробы с различным соотношением сырье : вода (1,0 : 0,5, 1 : 1, 1 : 2, 1 : 4, 1 : 6) при обоснованных концентрациях протамекса и мегатерина по отношению к каждому виду сырья.

Ферментолиз проводили в течение 3 ч при температуре 37 ^{o}C. Инактивацию фермента осуществляли при температуре 80 ^{o}C в течение 20 мин. Результаты определения рационального гидромодуля для процесса ферментолиза мягких тканей мерценарии представлены в табл. 3.16.

Проведенные исследования показывают, что эффективность ферментолиза зависит от гидромодуля. В случае протамекса происходит увеличение накопления аминного азота при увеличении гидромодуля до соотношения 1 : 4. Дальнейшее увеличение гидромодуля не приводит к увеличению данного показателя.

Таблица 3.16 – Влияние гидромодуля на ферментолиз мягких тканей мерценарии под действием протамекса и мегатерина

Гидромодуль	Фермент	Nам, мг/мл	Фермент	Nам, мг/мл
1,0 : 0,5	Протамекс	0,240±0,014	Мегатерин	0,210±0,007
1 : 1		0,280±0,014		0,280±0,014
1 : 2		0,280±0,014		0,280±0,014
1 : 4		0,420±0,021		0,280±0,014
1 : 6		0,420±0,021		0,280±0,014

Рациональным соотношением сырье : вода в этом случае является максимальное исследованное соотношение, которое составляет 1 : 4.

В случае мегатерина рациональным соотношением сырье : вода является 1 : 1.

В отличие от мерценарии, рациональный гидромодуль процесса ферментолиза спизулы под действием исследованных ферментов не различался и составлял 1 : 2 (рис. 3.3).

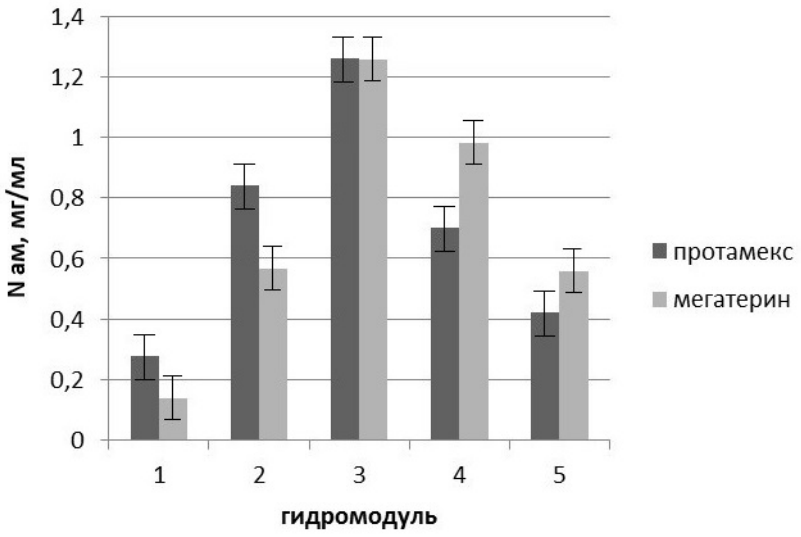

Рисунок 3.3 – Определение рационального гидромодуля для ферментолиза мягких тканей спизулы при оптимальной концентрации фермента и времени гидролиза: *1* – 1,0 : 0,5; *2* – 1 : 1; *3* – 1 : 2; *4* – 1 : 4; *5* – 1 : 6

Определение рационального гидромодуля ферментолиза тканей корбикулы позволило выявить особенности данного процесса (табл. 3.17). В отличие от других исследованных моллюсков рациональным гидромодулем процесса ферментолиза корбикулы является гидромодуль 1,0 : 0,5, для обоих ферментных препаратов. По-видимому, это связано с более высокой степенью обводненности тканей моллюска.

Таблица 3.17 – Влияние гидромодуля на ферментолиз мягких тканей корбикулы под действием протамекса и мегатерина

Гидромодуль	Фермент	Nам, мг/мл	Фермент	Nам, мг/мл
1,0 : 0,5	Протамекс	0,31±0,01	Мегатерин	0,270±0,006
1 : 1		0,26±0,01		0,140±0,004
1 : 2		0,21±0,01		0,090±0,002

3.2.3 Обоснование рационального времени ферментолиза

Определение рационального времени гидролиза сырья проводилось при рациональных значениях концентрации ферментов и гидромодуля для каждого вида сырья.

О ферментолизе судили по накоплению аминного азота в пробах (табл. 3.18).

Таблица 3.18 – Влияние времени ферментолиза мягких тканей мерценарии на накопление аминного азота в растворе

Время, ч	Фермент	Nам, мг/мл	Фермент	Nам, мг/мл
1,0	Протамекс	0,140±0,004	Мегатерин	0,140±0,004
1,5		0,210±0,008		0,140±0,004
2,0		0,210±0,008		0,210±0,008
2,5		0,280±0,014		0,280±0,014
3,0		0,280±0,014		0,280±0,014
3,5		0,210±0,008		0,280±0,014
4,0		0,210±0,008		0,280±0,014
4,5		0,140±0,004		0,280±0,014
5,0		0,140±0,004		0,280±0,014

Проведенные исследования показали, что рациональное время ферментолиза мягких тканей мерценарии в случае как протамекса, так и мегатерина составляет 2,5–3,0 ч. Следует отметить, что в случае протамекса увеличение времени ферментолиза приводило к снижению показателя аминный азот, что, очевидно, связано с ингибированием процесса продуктами ферментолиза. В то же время при использовании мегатерина ферментолиз в течение 2,5–5,0 ч не оказывал влияния на накопление аминного азота.

Зависимость ферментолиза мягких тканей спизулы от времени имеет четко выраженный пик при 3,0 ч для исследованных ферментов (рис. 3.4). Дальнейшее увеличение времени ферментолиза сопровождалось снижением накопления аминного азота.

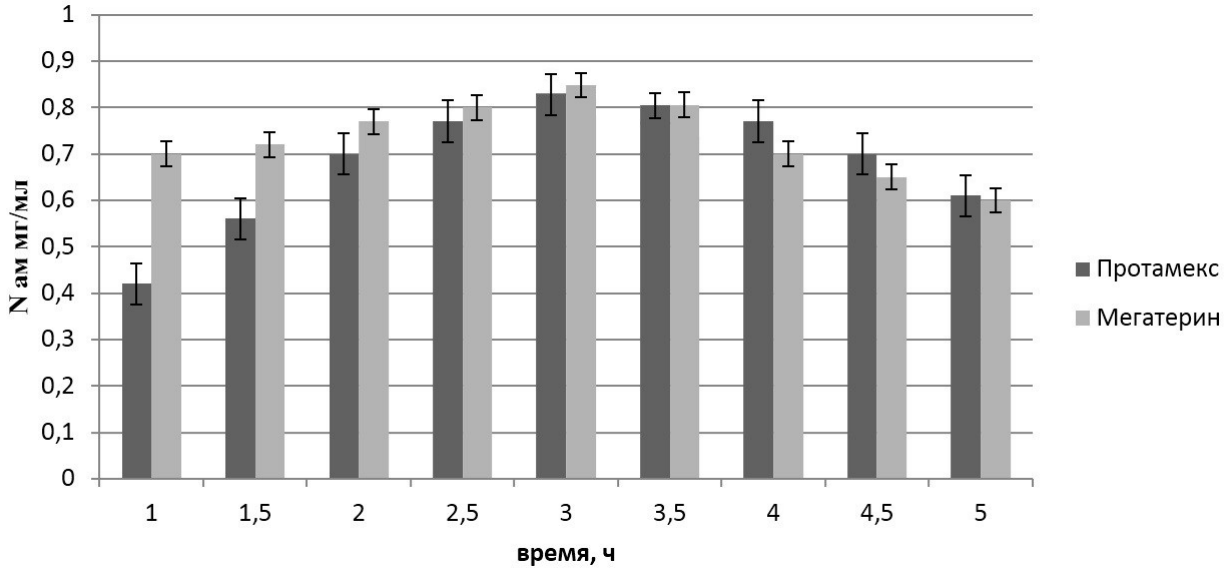

Рисунок 3.4 – Накопление аминного азота при ферментолизе мягких тканей спизулы во времени

Определение рационального времени ферментолиза мягких тканей корбикулы, показало, что под действием протамекса оно составляет 2,5 ч, а под действием мегатерина – 3,0 ч (рис. 3.5).

Таким образом, проведенные исследования показывают, что рациональные параметры ферментолиза всех мягких тканей исследованных моллюсков при оптимальной температуре (37–40 °С) составляют: для корбикулы – 2,5–3,0 ч, гидромодуль – 1,0 : 0,5, концентрация протамекса и мегатерина – 0,5 Е/г; для мерценарии – 2,5–3,0 ч, гидромодуль – 1 : 1 – 1 : 4, концентрация протамекса – 2,0 Е/г, мегатерина – 1,0 Е/г; для спизулы – 3,0 ч, гидромодуль – 1 : 2, концентрация протамекса – 0,5 Е/г, мегатерина – 1,0 Е/г.

Отметим, что ранее проведенные исследования условий для процесса ферментативного гидролиза мантии гребешка составили: гидромодуль сырье : вода 1 : 2, для процесса гидролиза тканей кальмара – гидромодуль сырье : вода в пределах 1 : 2 – 1 : 4, концентрация ферментного препарата (мегатерин) 4,5–5,5 Е/г ткани (Давидович, 2006). По-видимому, выявленные различия определяются составом и активностью ферментных препаратов, а также составом белков сырья.

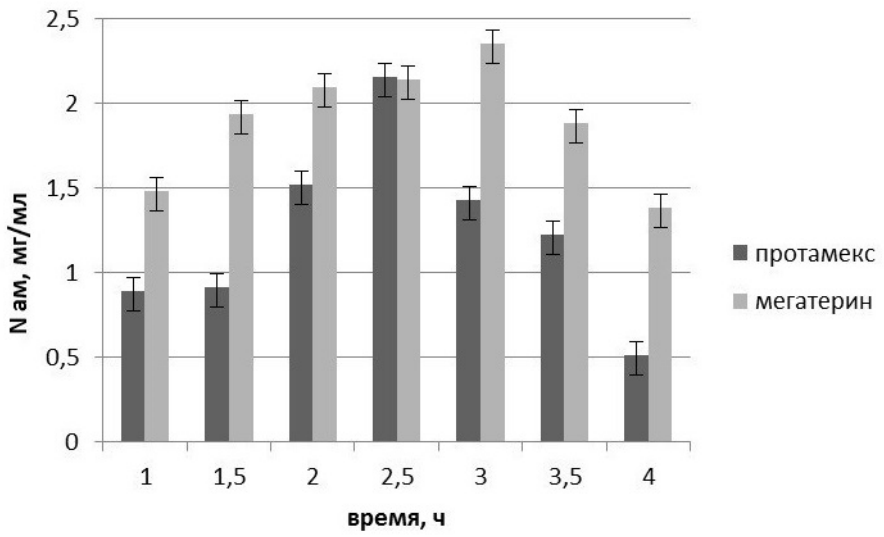

Рисунок 3.5 – Накопление аминного азота при ферментолизе мягких тканей корбикулы во времени

В сублимированных ферментолизатах тканей моллюсков был определен состав свободных аминокислот. Результаты исследования представлены в табл. 3.19.

Из представленных в табл. 3.19 данных видно, что наибольшим содержанием свободных аминокислот характеризуются ферментолизаты мягких тканей мерценарии. Отмечено, что содержание свободных аминокислот в ферментолизатах мягких тканей корбикулы в два раза меньше такового у мерценарии.

Анализ количественного содержания пептидов показывает, что ферментолиз тканей мерценарии под действием двух ферментных препаратов приводит к накоплению равного количества пептидов (9 мг/г). Практически равным количеством пептидов характеризуются ферментолизаты корбикулы. Различия в количественном содержании пептидов в ферментолизатах спизулы зависят от использованного ферментного препарата: в ферментолизате, полученном под действием мегатерина, пептидов было в 3 раза больше, чем в ферментолизате, полученном под действием протамекса. Следует отметить, что количественное содержание растворимого белка в ферментолизатах не зависит от ферментного препарата.

Таблица 3.19 – Состав свободных аминокислот ферментолизатов мягких тканей двустворчатых моллюсков, мг/г

Аминокислота	Мерценария		Спизула		Корбикула	
	Протамекс	Мегатерин	Протамекс	Мегатерин	Протамекс	Мегатерин
Незаменимые						
Arg	5,0	6,6	2,8	3,9	0,76	0,61
Val	4,9	4,2	2,0	2,7	0,91	0,46
His	1,0	1,1	0,3	0,5	0,43	0,35
Ile	4,6	3,8	2,2	2,6	0,79	0,59
Leu	8,9	7,3	2,9	4,3	1,43	0,71
Lys	3,9	4,5	1,7	2,6	0,92	0,68
Met	2,3	1,9	1,2	1,6	0,30	0,11
Thr	3,8	3,5	2,0	2,6	0,20	0,15
Trp	0,9	0,5	0,2	0,3	0,59	0,42
Phe	3,6	3,1	1,5	2,0	0,70	0,53
P-Ser	1,2	1,2	0,1	0,1	0,55	0,51
Tau	30,0	27,5	14,8	18,6	32,10	30,40
Sar	0,8	0,2	0,4	0,5	0,55	0,66
Orn	0,03	0,06	0,2	0,2	0,60	0,64
Car	1,3	0,3	0,7	0,7	0,10	0,22
Σ незаменимых	73,2	65,7	32,9	43,2	40,93	37,04
Заменимые						
Ala	7,8	7,6	12,0	16,4	1,26	0,93
Asp	1,8	2,1	1,2	1,5	1,70	1,10
Asn	0,4	1,0	–	–	–	–
Glu	9,3	9,6	6,4	2,9	2,45	2,11
Gly	6,3	6,4	5,3	6,6	0,73	0,66
Pro	2,6	3,2	0,3	0,3	1,42	0,89
Ser	2,4	1,7	1,8	2,3	0,27	0,21
Tyr	3,2	3,0	1,5	2,1	0,38	0,21
Cys	0,08	0,07	0,07	0,1	0,10	0,10
Σ заменимых	33,9	34,7	28,6	32,2	8,31	6,21
Общая сумма	107,1	100,4	61,5	75,4	49,24	43,25
Пептиды	9,0	9,0	8,0	25,0	10,3	12,1
Белок	270,0	270,0	450,0	480,0	420,0	440,0

Примечание: $p \leq 0,05$.

Также для корбикулы характерно в 4,0–5,6 раза более низкое содержание суммы заменимых аминокислот по сравнению с ферментолизатами мерценарии. Следует отметить также, что количественное содержание аминокислот в ферментолизатах указанных моллюсков практически не зависело от вида используемого фермента. Анализ состава свободных аминокислот ферментолизатов моллюсков свидетельствует, что в наибольшем количестве в них присутствуют незаменимые аминокислоты. Наибольшее различие содержания суммы заменимых и незамени-

мых аминокислот отмечается для ферментолизатов мягких тканей спизулы. В то же время ферментолизаты корбикулы характеризуются наибольшим содержанием таких незаменимых аминокислот, как таурин и орнитин.

3.3 Определение рациональных параметров ферментолиза сырья с внесением молочной сыворотки

3.3.1 Определение влияния объема молочной сыворотки на характеристику состава продукта

Одним из способов обогащения белкового и аминокислотного состава является внесение молочной сыворотки. Поскольку внесение молочной сыворотки изменяет белковый состав и pH реакционной смеси, была проведена серия экспериментов по определению влияния количества вносимой молочной сыворотки на процесс ферментолиза мягких тканей моллюсков. Для этого использовали разное соотношение сырьё : сыворотка (1,0 : 0,5, 1 : 1, 1 : 2). Ферментные препараты вносили в рациональных по отношению к сырью количествах, определенных выше. Ферментолиз проводили в течение 3 ч при температуре 37 ^{o}C.

Результаты определения аминного азота и количества молочной кислоты в ферментолизатах мягких тканей мерценарии представлены в табл. 3.20.

Проведённые исследования показали, что эффективность ферментолиза мягких тканей мерценарии зависит от количества вносимой сыворотки. Для обоих ферментов оптимальным соотношением сырьё : сыворотка является 1,0 : 0,5. Дальнейшее увеличение количества вносимой сыворотки приводило к снижению количественного показателя аминного азота.

Из данных табл. 3.20 видно, что внесение большого количества молочной сыворотки является причиной снижения аминного азота в реакционной смеси. Отметим, что в присутствии молочной сыворотки наиболее эффективно протекал процесс ферментолиза под действием протамекса.

При использовании мягких тканей мерценарии оптимальным соотношением сырье : молочная сыворотка при использовании обоих ферментных препаратов является соотношение 1,0 : 0,5.

Таблица 3.20 – Влияние гидромодуля на ферментолиз мягких тканей моллюсков в среде молочной сыворотки

Моллюск	Гидромодуль	Фермент	Nам, мг/мл	Фермент	Nам, мг/мл
Мерценария	1,0 : 0,5	Протамекс	0,420±0,021	Мегатерин	0,210±0,008
	1 : 1		0,280±0,009		0,140±0,004
	1 : 2		0,210±0,008		0,140±0,004
Спизула	1,0 : 0,5		0,60±0,03		0,60±0,03
	1 : 1		0,70±0,021		0,60±0,03
	1,0 : 1,5		0,70±0,021		0,60±0,03
Корбикула	1,0 : 0,5		0,80±0,04		0,60±0,03
	1 : 1		0,80±0,04		0,60±0,03
	1,0 : 1,5		0,60±0,03		0,50±0,025

В случае использования мягких тканей спизулы рациональным соотношением сырье : молочная сыворотка следует признать соотношение 1 : 1 при использовании протамекса и 1,0 : 0,5 в случае мегатерина. Отметим, что увеличение внесения молочной сыворотки от 0,5 до 1,0 на 1 часть сырья приводило к незначительному увеличению (на 16,6 %) накопления аминного азота в реакционной смеси. При этом в присутствии молочной сыворотки оба использованных ферментативных препарата оказались равноэффективными.

Практически равноэффективно протекал процесс гидролиза мягких тканей корбикулы при добавлении различного количества сыворотки под действием обоих использованных ферментных препаратов. Рациональным соотношением сырье : сыворотка при использовании данного вида сырья также является соотношение 1,0 : 0,5.

Таким образом, проведенное исследование показало, что рациональным соотношением сырье : молочная сыворотка для спизулы и корбикулы является 1 : 1, которое не зависит от вида использованных ферментных препаратов. Для мерценарии рациональным соотношением сырье : молочная сыворотка является 1,0 : 0,5 для двух исследованных ферментных препаратов.

3.3.2 Определение влияния молочной сыворотки на степень ферментолиза мягких тканей моллюсков

Обогащение продукта молочной сывороткой возможно двумя способами: добавлением молочной сыворотки к ферментолизату ткани и проведением ферментолиза гомогената ткани в молочной сыворотке. Для определения рационального режима внесения молочной сыворотки готовили серию проб с добавлением молочной сыворотки к ферментолизату мягких тканей моллюсков (ферментолизат + сыворотка) и проб совместного ферментолиза гомогената мягких тканей моллюсков в молочной сыворотке (совместный ферментолиз) при соотношении сырье : сыворотка 1 : 1 и рациональном гидромодуле для каждого вида моллюска.

Об изменении показателя аминного азота судили по сравнению с контролем. Контролем служили пробы ферментолизатов моллюсков без внесения молочной сыворотки. Активность протамекса и мегатерина соответствовала рациональной для каждого вида сырья.

Представляло интерес определение влияния молочной сыворотки на ферментолиз ткани мерценарии в регулируемой по pH и в нерегулируемой среде. Регулирование pH реакционной смеси проводили добавлением 0,1 н NaOH.

Результаты определения аминного азота в ферментолизатах ткани моллюска в регулируемой реакционной среде (при pH 8,0) и без изменения pH среды (6,5) представлены в табл. 3.21 и 3.22.

Таблица 3.21 – Накопление аминного азота в ферментолизатах мягких тканей моллюсков в регулируемой среде (pH 8,0)

Вид моллюска	Проба	Фермент	Nам, мг/мл	Фермент	Nам, мг/мл
Мерценария	Ферментолизат ткани	Протамекс	0,140±0,004	Мегатерин	0,110±0,021
	Совместный ферментолиз		0,210±0,008		0,140±0,004
Спизула	Ферментолизат ткани		0,90±0,027		1,10±0,04
	Совместный ферментолиз		1,20±0,036		1,20±0,036
Корбикула	Ферментолизат ткани		1,10±0,04		1,10±0,04
	Совместный ферментолиз		1,0±0,03		1,10±0,04

Таблица 3.22 – Накопление аминного азота в ферментолизатах мягких тканей мерценарии в регулируемой среде (pH реакционной среды – 6,5)

Проба	Фермент	Nам, мг/мл	Фермент	Nам, мг/мл
Ферментолизат ткани	Протамекс	0,70±0,021	Мегатерин	0,70±0,021
Ферментолизат + сыворотка		0,140±0,004		0,140±0,004
Совместный ферментолиз		0,210±0,008		0,140±0,004

Проведенное исследование показало, что ферментолиз мягких тканей мерценарии в среде молочной сыворотки при pH 8,0 способствовал увеличению показателя аминного азота на 50 %, что свидетельствует об интенсивном гидролизе белков сыворотки.

Аналогичный результат получен и при ферментолизе мягких тканей мерценарии в молочной сыворотке под действием мегатерина: количество аминного азота в пробе увеличивалось в два раза по сравнению с ферментолизатом водного гомогената (pH 8,) мягких тканей.

Ферментолиз мягких тканей спизулы в среде молочной сыворотки увеличивал показатель аминного азота в случае использования протамекса на 33 %, а в случае мегатерина – на 9 %. По-видимому, в данном случае внесение сыворотки оказывает влияние на доступность белкового субстрата для гидролиза различными ферментами.

При использовании в качестве сырья мягких тканей корбикулы изменений показателя аминного азота не отмечено в пробах с различным составом реакционной смеси. Возможным объяснением данного факта может служить предположение о разной доступности белков реакционной смеси для действия ферментов.

Для проверки данного предположения с использованием мягких тканей мерценарии проведено определение степени гидролиза сырья в реакционной среде без регулирования величины pH (6,5) (табл. 3.22).

В результате в нерегулируемой реакционной среде (pH 6,5) накопление аминного азота возрастает в случае использования в качестве сырья мерценарии и спизулы при совместном ферментолизе.

На примере мягких тканей мерценарии показано, что процесс ферментолиза мягких тканей и молочной сыворотки проходил равноэффективно при различных значениях pH реакционной среды. Также отмечено, что в ферментолизатах при pH 6,5 в случае мегатерина оптимальные параметры ферментолиза с обогащением молочной сывороткой остаются такими же, как в регулируемой среде. При использовании протамекса оптимальным параметром внесения молочной сыворотки без изменения pH среды является совместный ферментолиз.

Из полученных данных можно сделать заключение о наибольшей эффективности использования ферментных препаратов с высокой pH-лабильностью при применении реакционных смесей, содержащих молочную сыворотку.

Таким образом, проведение ферментолиза мягких тканей моллюсков не требует регулирования pH реакционной среды.

3.4 Исследование состава сухих ферментолизатов мягких тканей моллюсков и молочной сыворотки

3.4.1 Определение содержания белка и пептидов в ферментолизатах моллюсков

Известно, что протеолиз сопровождается накоплением в реакционной среде низкомолекулярных растворимых компонентов. Для качественной характеристики в сублимированных ферментолизатах проводили определение содержания белка и пептидов методом Лоури. Результаты исследования концентрации белка и пептидов в сублимированных ферментолизатах моллюсков представлены в табл. 3.23–3.25.

Таблица 3.23 – Содержание белка и пептидов в ферментолизатах мерценарии, мг/г

Проба	Фермент	Концентрация белка	Концентрация пептидов
Ферментолизат ткани	Протамекс	270,0±8,0	9,0±0,4
Ферментолизат + сыворотка		300,0±15,0	15,0±0,75
3 Совместный ферментолиз		320,0±16,0	20,0±1,0
Ферментолизат ткани	Мегатерин	270,0±8,1	9,0±0,4
Ферментолизат + сыворотка		310,0±15,5	14,0±0,7
Совместный ферментолиз		300,0±15,0	19,0±0,95

Таблица 3.24 – Содержание белка и пептидов в ферментолизатах корбикулы, мг/г

Проба	Фермент	Концентрация белка	Концентрация пептидов
Ферментолизат ткани	Протамекс	420,0±16,0	10,3±0,3
Ферментолизат + сыворотка		540,0±23,0	12,0±0,5
Совместный ферментолиз		580,0±27,0	15,4±0,7
Ферментолизат ткани	Мегатерин	440,0±16,0	12,1±0,5
Ферментолизат + сыворотка		530,0±22,0	15,0±0,7
Совместный ферментолиз		570,0±26,0	27,0±16,0

Из данных табл. 3.23–3.25 видно, что образцы сублимированных ферментолизатов мягких тканей мерценарии имеют в своём составе белок в количестве 27–32 %, спизулы – 45–68 %, а корбикулы – 42–58 % от массы продукта. Известно, что в процессе ферментолиза белкового сырья образуются низкомолекулярные фрагменты – пептиды, содержание которых в исследованных образцах было различным. Так, количественное содержание пептидов в препаратах из мерценарии

составляло 9,0–20,0 мг/г, из корбикулы – 10,3–27,0 мг/г, а из спизулы 8,0–48,0 мг/г.

Таблица 3.25 – Содержание белка и пептидов в ферментолизатах спизулы, мг/г

Проба	Фермент	Концентрация белка	Концентрация пептидов
Ферментолизат ткани	Протамекс	450 ± 11	8,0 ± 0,3
Ферментолизат + сыворотка		519 ± 12	21,0 ± 0,6
Совместный ферментолиз		645 ± 16	31,0 ± 0,7
Ферментолизат ткани	Мегатерин	480 ± 12	25,0 ± 0,8
Ферментолизат + сыворотка		535 ± 14	36,0± 1,6
Совместный ферментолиз		680 ± 20	48,0± 2,0

Столь значительные вариации в количественном содержании растворимого белка и пептидов можно объяснить различным составом сырья.

Известно, что ферментный препарат мегатерин гетерогенен и включает 8 основных фракций с молекулярной массой от 11,48 до 28,18 кДа. Атакуемость белков под действием мегатерина различна и снижается в ряду: казеин > солерастворимые белки > водорастворимые белки > яичный альбумин > белки плазмы крови > коллаген (Антипова, 2001). Выявлено, что ферментный препарат мегатерин проявляет наибольшее сродство к соле- и водорастворимым фракциям мяса, актомиозину и в меньшей степени к коллагену.

Особенностью действия протеолитических ферментов является их специфичность по отношению к типу пептидной связи, что позволяет получать гидролизаты с различной степенью гидролиза белка. Специфичность расщепления белков сыворотки была показана на примере β-лактоглобулина. Данный глобулярный белок составляет около 12 % общего белка молока и 58 % сыворотки. Результаты ферментативного гидролиза β-лактоглобулина под действием протамекса показали, что количе-

ство сайтов расщепления равно 41, а количество свободных аминокислот – 17. Выявлено, что сайты расщепления белка под действием протамекса представлены незаряженными аминокислотами (Борисова, 2012). На основании проведенных исследований протамекс был рекомендован для получения ферментолизата белков молочной сыворотки.

Следует отметить, что препараты, полученные из мягких тканей моллюсков с использованием молочной сыворотки, по количественному содержанию белка (полученные с использованием двух ферментов) не различались.

Определение количественного содержания пептидов в препаратах показало, что происходит их накопление, которое зависит от способа внесения сыворотки (табл. 3.23–3.25). Так, внесение сыворотки в ферментолизат ткани мерценарии повышает количество пептидов в продукте на 55–66 %, а совместный ферментолиз повышает количество пептидов на 111–122 % по сравнению с ферментолизатом без добавления сыворотки. Еще более значительное увеличение количественного содержания пептидов отмечено при получении препаратов из спизулы. Так, внесение молочной сыворотки в ферментолизаты спизулы сопровождалось повышением количества пептидов на 144–263 % при использовании соответственно мегатерина и протамекса. В то же время ферментолиз тканей спизулы в молочной сыворотке приводил к повышению количества пептидов на 192–388 %.

Отличия от вышеописанной закономерности выявлены при определении количества пептидов в ферментолизатах корбикулы. Так, использование протамекса приводило к увеличению количества пептидов при ферментолизе гомогената мягких тканей корбикулы в молочной сыворотке на 54 %. В то же время использование фермента мегатерин при совместном ферментолизе корбикулы и молочной сыворотки сопровождалось увеличением количества пептидов в конечном продукте на 123 %.

Полученные экспериментальные образцы ферментолизатов, указанные в табл. 3.23–3.25, были высушены на сублимационной сушке при стандартных условиях (температура в сублимационной камере –40 ^{o}C, давление 8–10 Па, время 8 ч).

Полученные сублимированные ферментолизаты из мягких тканей моллюсков характеризовались содержанием белка 27–68 % от массы продукта. При этом процесс совместного ферментолиза мягких тканей моллюсков и молочной сыворотки сопровождался повышением количества пептидов на 111–388 % от массы продукта.

3.4.2 Определение содержания свободных аминокислот в ферментолизатах моллюсков в зависимости от способа внесения молочной сыворотки

Пищевая и биологическая ценность белковых продуктов определяется их аминокислотным составом. В экспериментальных образцах было проведено определение содержания свободных аминокислот. Результаты исследования состава свободных аминокислот ферментолизатов моллюсков представлены в табл. 3.26–3.28.

Результаты проведенного исследования показывают, что ферментолизаты мягких тканей мерценарии, полученные с использованием двух ферментов, характеризуются равным содержанием свободных аминокислот: в присутствии протамекса – около 107 мг/г сублимированного ферментолизата, в присутствии мегатерина – 100 мг/г. Внесение молочной сыворотки к ферментолизату тканей моллюска изменяет содержание свободных аминокислот в случае использования протамекса на 11 мг/г и повышает на 7 мг при применении мегатерина.

Отметим, что использование протамекса способствует большему накоплению в продукте таких незаменимых аминокислот, как аргинин, лейцин, лизин, метионин, треонин, фенилаланин. Отмечено, что применяемые биотехнологические приемы практически не влияют на количественное содержание таких свободных аминокислот, как фосфосерин, таурин, саркозин, орнитин и карнозин.

При анализе состава заменимых аминокислот в конечных продуктах отмечено накопление таких аминокислот, как аланин, глутаминовая кислота, тирозина, глутамина и пролина.

Таблица 3.26 – Свободные аминокислоты в ферментолизатах мягких тканей мерценарии, мг/г образца

Аминокислота	Ферментолизат ткани	Ферментолизат ткани + сыворотка	Совместный ферментолиз	Ферментолизат ткани	Ферментолизат ткани + сыворотка	Совместный ферментолиз
	Протамекс			Мегатерин		
1	*2*	*3*	*4*	*5*	*6*	*7*
Незаменимые						
Arg	5,0	7,0	9,11	6,6	5,8	8,8
Val	4,9	5,1	6,70	4,2	4,2	5,7
His	1,0	1,2	1,60	1,1	0,9	1,5
Ile	4,6	4,9	6,50	3,8	3,8	5,3
Leu	8,9	8,8	12,90	7,3	7,2	10,3
Lys	3,9	4,8	6,10	4,5	4,8	6
Met	2,3	2,6	3,40	1,9	1,7	2,4
Thr	3,8	4,3	5,40	3,5	3,4	4,8
Trp	0,9	0,9	1,0	0,5	0,7	0,7
Phe	3,6	4,2	5,60	3,1	2,7	4,4
P-Ser	1,2	1,0	1,30	1,2	1,5	1,6
Tau	30,0	28,5	37,60	27,5	36,9	38,9
Sar	0,8	0,3	0,40	0,2	0,6	0,5
Orn	0,03	0,03	0	0,06	0,3	0,1
Car	1,3	1,0	1,20	0,3	0,5	1,0
Σ незаменимых аминокислот	73,2	74,6	98,80	65,7	75,0	92,0
Заменимые						
Ala	7,8	8,6	11,5	7,6	7,5	10,7
Asp	1,8	2,3	2,9	2,1	1,8	2,8
Asn	0,4	0	0	1,0	0	1,0
Glu	9,3	10,2	13,5	9,6	9,7	12,9
Gly	6,3	6,5	8,6	6,4	6,8	8,8
Pro	2,6	2,8	3,5	3,2	2,1	3,7
Ser	2,4	2,2	2,6	1,7	2,3	2,3
Tyr	3,2	3,8	5,1	3,0	2,5	4,2
Cys	0,08	0,08	0,1	0,07	0,04	0,08
Σ заменимых аминокислот	33,9	36,5	47,8	34,7	32,7	46,4
Σ аминокислот*	107,1	111,1	146,6	100,4	106,7	138,4

* Достоверность различий показателей: между ферментолизатом (*2*) и ферментолизатом в среде молочной сыворотки (*4*) $p \leq 0,0002$; ферментолизата с добавлением молочной сыворотки (*3*) и ферментолизата в среде молочной сыворотки (*4*) $p \leq 0,01$; между ферментолизатом (*5*) и ферментолизатом в среде молочной сыворотки (*7*) $p \leq 0,003$; ферментолизата с добавлением молочной сыворотки (*6*) и ферментолизата в среде молочной сыворотки (*7*) $p \leq 0,00001$.

Таблица 3.27 – Свободные аминокислоты в ферментолизатах мягких тканей спизулы, мг/г образца

Амино-кислота	Ферментолизат ткани	Ферменто-лизат ткани + сыворотка	Совме-стный фермен-толиз	Ферменто-лизат ткани	Ферменто-лизат ткани + сыворотка	Совместный ферменто-лиз
	Протамекс			Мегатерин		
1	*2*	*3*	*4*	*5*	*6*	*7*
Незаменимые						
Arg	2,8	7,6	9,7	3,9	6,8	8,1
Val	2,0	5,2	7,7	2,7	4	7,0
His	0,3	1,1	1,4	0,5	0,9	1,0
Ile	2,2	4,8	6,2	2,6	3,6	4,9
Leu	2,9	8,9	10,9	4,3	6,3	8,3
Lys	1,7	4,2	5,3	2,6	3,9	5,1
Met	1,2	3,0	3,8	1,6	1,6	2,0
Thr	2,0	4,0	4,9	2,6	3,9	4,6
Trp	0,2	0,2	0,3	0,3	0,3	0,4
Phe	1,5	4,4	5,6	2,0	3,0	4,3
P-Ser	0,1	0,8	0,9	0,1	0,3	0,3
Tau	14,8	16,6	16,7	18,6	19,3	19,7
Sar	0,4	2,3	2,5	0,5	4,2	2,7
Orn	0,2	0,4	0,4	0,2	0,4	0,4
Car	0,7	3,5	4,0	0,7	3,63	4,0
Σ незамени-мых амино-кислот	33,0	67,0	80,3	43,2	62,1	72,8
Заменимые						
Ala	12,0	24,5	32,0	16,4	22,1	31,1
Asp	1,2	1,4	1,5	1,5	1,7	1,8
Glu	6,4	8,1	9,9	2,9	9,2	12,7
Gly	5,3	10,4	14,1	6,6	9,6	12,2
Pro	0,3	2,4	3,3	0,3	1,4	2,7
Ser	1,8	3,3	4,2	2,3	3,5	3,8
Tyr	1,5	4,1	5,3	2,1	3,3	4,5
Cys	0,07	0,2	0,2	0,1	0,2	0,2
Σ заменимых аминокислот	28,5	54,4	70,5	32,2	51,0	69,0
Σ аминокис-лот*	61,5	121,4	150,8	75,4	113,1	141,8

* Достоверность различий показателей: между ферментолизатом (*2*) и ферментолизатом с добавлением молочной сыворотки (*3*) $p \leq 0,0001$; между ферментолизатом (*2*) и ферментолизатом в среде молочной сыворотки (*4*) $p \leq 0,0002$; ферментолизата с добавлением молочной сыворотки (*3*) и ферментолизата в среде молочной сыворотки (*4*) $p \leq 0,001$; между ферментолизатом (*5*) и ферментолизатом с добавлением молочной сыворотки (6) $p \leq 0,0002$; между ферментолизатом (*5*) и ферментолизатом в среде молочной сыворотки (*7*) $p \leq 0,0005$; ферментолизата с добавлением молочной сыворотки (*6*) и ферментолизата в среде молочной сыворотки (*7*) $p \leq 0,007$.

Таблица 3.28 – Свободные аминокислоты в ферментолизатах мягких тканей корбикулы, мг/г образца

Аминокислота	Отвар 1 : 1	Ферментолизат ткани	Ферментолизат ткани + сыворотка	Совместный ферментолиз	Ферментолизат ткани	Ферментолизат ткани + сыворотка	Совместный ферментолиз
		Протамекс			Мегатерин		
1	*2*	*3*	*4*	*5*	*6*	*7*	*8*
Незаменимые							
Arg	0,11	0,76	1,05	2,13	0,61	1,12	1,99
Val	0,01	0,91	1,48	2,03	0,46	1,45	1,93
His	0,34	0,43	0,51	0,89	0,35	0,48	0,77
Ile	0,04	0,79	0,95	1,71	0,59	0,80	1,52
Leu	0,09	1,43	2,95	2,86	0,71	1,56	2,64
Lys	0,00	0,92	1,56	2,36	0,68	1,19	2,05
Met	0,04	0,30	0,27	0,67	0,11	0,15	0,55
Thr	0,00	0,20	0,41	0,49	0,15	0,32	0,41
Trp	0,00	0,59	0,82	1,38	0,42	0,73	0,92
Phe	0,07	0,70	1,02	1,50	0,53	0,98	1,56
P-Ser	0,12	0,55	1,99	2,31	0,51	2,11	2,82
Tau	22,20	32,10	28,40	33,70	30,40	29,30	32,60
Sar	0,11	0,55	3,56	4,01	0,66	4,03	4,43
Orn	0,20	0,60	2,21	2,65	0,64	2,57	2,98
Car	0,11	0,10	1,22	1,51	0,22	1,41	1,85
Σ незаменимых аминокислот	23,44	40,93	48,40	60,20	37,04	48,20	59,02
Заменимые							
Ala	0,19	1,26	1,28	2,62	0,93	1,69	2,33
Asp	0,00	1,70	2,20	3,73	1,10	0,14	1,98
Glu	0,00	2,45	3,33	5,52	2,11	3,46	5,21
Gly	0,00	0,73	1,02	2,33	0,66	0,93	1,81
Pro	0,00	1,42	2,41	2,77	0,89	1,67	2,56
Ser	0,00	0,27	0,38	0,64	0,21	0,33	0,57
Tyr	0,00	0,38	0,00	1,14	0,21	0,62	0,89
Cys	0,00	0,10	0,51	0,20	0,10	0,54	0,61
Σ заменимых аминокислот	0,19	8,31	11,13	18,95	6,21	9,38	15,96
Σ аминокислот*	23,63	49,24	59,53	79,15	43,25	57,58	74,98

* Достоверность различий показателей: между ферментолизатом (*3*) и ферментолизатом в среде молочной сыворотки (*5*) $p \leq 0,00002$; ферментолизата с добавлением молочной сыворотки (*4*) и ферментолизата в среде молочной сыворотки (*5*) $p \leq 0,001$; между ферментолизатом (*6*) и ферментолизатом с добавлением молочной сыворотки (*7*) $p \leq 0,004$; между ферментолизатом (*6*) и ферментолизатом в среде молочной сыворотки (*8*) $p \leq 0,0005$; ферментолизата с добавлением молочной сыворотки (*7*) и ферментолизата в среде молочной сыворотки (*8*) $p \leq 0,007$.

Совместный ферментолиз мягких тканей моллюсков в молочной сыворотке повышал содержание свободных аминокислот на 38,0–39,5 мг.

Обогащение свободными аминокислотами при использовании молочной сыворотки определяется не только количественным их содержанием в сыворотке, но и процессом ферментолиза белков самой сыворотки. Сравнительное исследование количественного состава свободных аминокислот препаратов, полученных при совместном ферментолизе сырья и сыворотки, показывает, что при использовании двух ферментных препаратов в конечном продукте происходит увеличение содержания свободных аминокислот на 31,7–39,5 мг по сравнению с препаратом, полученным при добавлении сыворотки к ферментолизату.

Следует отметить, что совместный ферментолиз приводит к увеличению содержания незаменимых аминокислот на 25,9 % в случае использования протамекса и на 28,5 % в случае мегатерина. Количественное содержание заменимых аминокислот увеличивается соответственно на 26,9 и 27,5 %.

Таким образом, наибольшим содержанием свободных аминокислот характеризуются продукты, полученные при совместном ферментолизе мягких тканей моллюсков и молочной сыворотки.

Исследование влияния способа внесения молочной сыворотки при использовании в качестве сырья мягких тканей спизулы (табл. 3.27) показывает, что внесение молочной сыворотки увеличивает содержание свободных аминокислот на 97,4 % при использовании протамекса и на 88,1 % при использовании мегатерина.

Проведение совместного ферментолиза мягких тканей спизулы в молочной сыворотке под действием протамекса увеличивает содержание в продукте свободных аминокислот на 145,0 % по сравнению с ферментолизатом тканей и на 24,2 % по сравнению с ферментолизатом ткани с добавлением сыворотки. При использовании мегатерина эти цифры составляют соответственно 88,1 и 25,4 %.

Внесение молочной сыворотки в ферментолизат моллюска увеличивает содержание незаменимых аминокислот на 102,5 % в случае использование протамекса и на 43,9 % в случае мегатерина. Увеличение содержания заменимых ами-

нокислот количественно равно таковому для незаменимых аминокислот для каждого фермента соответственно.

Совместный ферментолиз тканей спизулы и молочной сыворотки приводит к увеличению содержания свободных аминокислот на 142,4 (при использовании протамекса) и 66,6 % (в случае мегатерина) по сравнению с ферментолизатом мягких тканей в водной среде. Увеличение содержания заменимых аминокислот составляло 145,2 и 88,1 % при использовании соответственно протамекса и мегатерина.

Влияние белков сыворотки на количественное содержание свободных аминокислот в продукте оценивали по сравнению с их содержанием в ферментолизате с добавлением молочной сыворотки и в препарате, полученном при совместном ферментолизе. Результаты определения показывают, что повышение содержания свободных аминокислот составило около 25 % для обоих исследованных ферментов. При этом следует отметить, что увеличение содержания незаменимых аминокислот составляло 16–19 %, а заменимых – 30–36 %.

Ранее было показано (патент РФ 2219805), что отвар корбикулы обладает значительной физиологической активностью. Однако незначительный выход целевого сухого продукта (менее 1 %) явился объективным препятствием для разработки технологии пищевого продукта.

Проведенное нами исследование показало, что содержание свободных аминокислот в отваре из корбикулы составляет 23,6 мг на 1 г сублимированного отвара. При этом в отваре практически отсутствуют заменимые аминокислоты. Из незаменимых аминокислот выделяется значительное количество таурина, которое составляет 94 % от суммы свободных аминокислот сублимированного отвара корбикулы.

Применение метода протеолиза для биоконверсии мягких тканей корбикулы сопровождается повышением выхода свободных аминокислот по сравнению с отваром на 108–143 % при использовании соответственно протамекса и мегатерина. Из приведенных данных видно, что степень биоконверсии сырья более глубоко протекает под действием фермента мегатерин. Отметим, что количественное со-

держание заменимых аминокислот в ферментолизате возрастает в 32,7–43,7 раза по сравнению с отваром. В то же время ферментолиз повышал содержание незаменимых аминокислот только в 1,6–1,7 раза.

Обогащение ферментолизата корбикулы белками молочной сыворотки повышало содержание свободных аминокислот в случае использования протамекса на 21,0 мг/г (21 %) и на 54,3 мг/г (33 %) при использовании протамекса. При этом общее содержание свободных аминокислот в препаратах с добавлением молочной сыворотки составляло около 58–60 мг/г и практически не зависело от использованного фермента.

Совместный ферментолиз мягких тканей корбикулы и белков молочной сыворотки способствовал значительному увеличению содержания свободных аминокислот в конечном продукте. Так, в случае использования протамекса увеличение содержания свободных аминокислот составляло 61 % по сравнению с ферментолизатом тканей и 33 % по сравнению с ферментолизатом с добавлением молочной сыворотки. В случае использования мегатерина увеличение содержания свободных аминокислот составляло соответственно 73,4 и 30,2 %.

Следует отметить, что совместный ферментолиз сопровождался увеличением количества незаменимых аминокислот в продукте на 24-47 % по сравнению с ферментолизатом тканей и ферментолизатом, обогащенным молочной сывороткой, при использовании ферментного препарата протамекс. В случае использования мегатерина такое увеличение составляло соответственно 22–59 %.

Проведенные расчеты показали, что совместный ферментолиз по сравнению с отваром тканей корбикулы приводит к повышению общего содержания свободных аминокислот в среднем на 152–157 %.

Из полученных данных можно сделать заключение, что ферментолизаты моллюсков практически не различались по количественному содержанию белка. Исключением являются препараты, полученные с добавлением молочной сыворотки в ферментолизаты моллюсков.

В то же время по скору свободных аминокислот полученные препараты различались значительно. Так, содержание свободных аминокислот в ферменто-

лизате мерценарии было в 2 раза больше, чем в ферментолизате корбикулы. Внесение в ферментолизат моллюсков сыворотки сопровождалось выравниванием количественного содержания свободных аминокислот в продуктах из спизулы и мерценарии. Содержание аминокислот в этих продуктах было в 2 раза выше, чем в продукте из корбикулы. Аналогичные данные получены и при сравнении содержания свободных аминокислот в продуктах из моллюсков, полученных способом совместного ферментолиза тканей моллюска в молочной сыворотке.

Поскольку в технологическом процессе используется сублимационная сушка, происходит концентрирование молочной кислоты в конечном продукте. Молочная кислота является пищевой добавкой, поэтому представляло интерес определение ее содержания в конечных продуктах. Проведенное исследование показало, что продукты, полученные с использованием молочной сыворотки, различались по ее содержанию. Так, содержание молочной кислоты в 100 мг продукта из мерценарии составляло от 3,4 до 4,0 мг, из спизулы – 4,9–5,1 мг, а в продукте из корбикулы – 5,6–6,0 мг.

Исследования показали, что в конечных сублимированных продуктах содержатся углеводы в количестве 3,7–5,0 %. Наибольшим содержанием углеводов характеризуются ферментолизаты из спизулы, доля которых может составлять 5,0 %. Отметим, что количественное содержание углеводов увеличивалось при добавлении молочной сыворотки, но не зависело от способа ее внесения.

Оценка количественного выхода ферментолизатов позволяет сделать вывод о перспективности использования обоих ферментов для получения обогащенных продуктов. Выход конечных продуктов при ферментолизе мягких тканей моллюсков зависел от используемого фермента и в среднем составлял для протамекса 13,6 %, для мегатерина – 19,7 %. Отметим, что наименьший выход ферментолизатов характерен для корбикулы при использовании обоих ферментов.

Обогащение ферментолизатов белками молочной сыворотки способствовало увеличению выхода продукта в случае использования протамекса до 16,3 %, а в случае мегатерина – до 21,0 %. Совместный ферментолиз тканей моллюсков с

молочной сывороткой при использовании протамекса и мегатерина способствовал увеличению выхода продуктов до 24,7 %.

Сравнение выхода препаратов, полученных при ферментолизе сырья, и препаратов, полученных при совместном ферментолизе, показывает, что выход увеличивался в 1,8–1,9 раза при использовании мерценарии, в 1,2–1,4 раза – спизулы и в 1,1–1,3 – для корбикулы.

В диетологии принято оценивать качество пищевого белка путем сравнения его аминокислотного состава с аминокислотным составом стандартного или «идеального» белка. «Идеальный» белок – условное понятие, обозначающее белок, по сбалансированности аминокислотного состава наиболее полно отвечающий потребностям организма человека в незаменимых аминокислотах. В качестве «идеального» белка применяют аминокислотную шкалу Комитета ФАО/ВОЗ, показывающую содержание каждой из незаменимых аминокислот в 100 г стандартного белка.

Расчет соответствия состава аминокислот ферментолизатов моллюсков шкале идеального белка представлен в табл. 3.29.

Приведенные в табл. 3.29 данные показывают, что процесс биоконверсии моллюсков-сырца с использованием протамекса только в случае мерценарии приводил к накоплению аминокислот в ферментолизате в количестве, превышающем их содержание в «идеальном» белке. В случае использования спизулы-сырца (табл. 3.29) «идеальному» белку соответствовало только содержание изолейцина, метионина и цистеина, фенилаланина и тирозина. Ферментолизат корбикулы-сырца по содержанию аминокислот не соответствовал «идеальному» белку.

Обогащение ферментолизатов моллюсков молочной сывороткой способствовало дальнейшему накоплению аминокислот в продукте, которое составляло в случае мерценарии от 164 до 838 % от их содержания в «идеальном» белке, у спизулы содержание практически всех аминокислот соответствовало шкале «идеального» белка, за исключением аминокислоты триптофан, содержание которой составляло 23 % от содержания в «идеальном» белке. В то же время обогащение ферментолизата корбикулы молочной сывороткой хоть и приводило к увеличе-

нию суммы незаменимых аминокислот в продукте, однако их содержание составляло от 37 до 69 % от содержания в «идеальном» белке.

Таблица 3.29 – Содержание аминокислот в ферментолизатах моллюсков, % от идеального белка

Аминокислота	ФАО/ВОЗ, мг/г	Ферментолизат ткани	Ферментолизат ткани + сыворотка	Совместный ферменто-лиз	Ферментолизат ткани	Ферментолизат ткани + сыворотка	Совместный ферменто-лиз
		Протамекс			Мегатерин		
Мерценария							
Val	54	341,6	316,7	388,9	288,1	253,9	328,1
Ile	48	354,1	340,9	419,9	297,1	254,7	344,4
Leu	104	319,4	281,4	390,0	262,5	222,7	310,4
Lys	81	180,2	200,0	237,3	204,8	190,4	231,5
Met +Cys	35	474,9	480,0	584,3	393,8	304,1	417,1
Trp	20	162,9	148,4	164,0	96,3	119,3	114,1
Phe+Tyr	80	627,2	667,1	837,9	421,7	571,5	671,1
Спизула							
Val	54	81,5	184,5	218,5	106,1	137,2	192,0
Ile	48	102,8	192,3	199,7	113,7	138,5	149,5
Leu	104	62,8	165,1	161,2	86,7	113,2	117,2
Lys	81	47,7	100,6	99,9	67,4	91,0	93,0
Met+Cys	35	149,0	325,0	336,0	188,2	181,7	175,0
Trp	20	23,3	21,1	23,0	28,1	30,6	30,9
Phe+Tyr	80	166,1	406,6	420	214,2	291,2	321,0
Корбикула							
Val	54	40,1	50,7	64,8	19,4	50,6	53,3
Ile	48	39,2	36,6	61,4	27,9	31,4	47,3
Leu	104	32,7	52,5	56,4	15,5	28,3	37,9
Lys	81	27,0	35,7	50,2	19,0	27,7	37,7
Met+Cys	35	52,5	67,5	82,3	27,3	91,6	100,1
Trp	20	70,2	75,9	118,9	47,7	68,8	68,6
Phe+Tyr	80	63,8	69,2	113,5	41,6	81,2	90,8

Примечание: $p \leq 0,05$.

Отметим, что совместный ферментолиз мягких тканей корбикулы и молочной сыворотки при использовании протамекса приводил к соответствию шкале ВОЗ содержание только триптофана, фенилаланина и тирозина. Содержание других аминокислот составляло 50–82 % от «идеального» белка.

Совместный ферментолиз (протамекс) мягких тканей спизулы и молочной сыворотки не приводил к значительному изменению количественного содержания аминокислот. Как и в случае обогащенного сывороткой продукта содержание триптофана в продукте, полученном методом совместного ферментолиза, не соответствовало шкале ФОА/ВОЗ.

При использовании ферментного препарата «Мегатерин» все исследованные варианты ферментолизатов мерценарии соответствовали по содержанию аминокислот «идеальному» белку.

В случае ферментолизата спизулы-сырца содержание лейцина, лизина и триптофана не соответствовало шкале «идеального» белка. Следует отметить, что и совместный ферментолиз тканей спизулы и молочной сыворотки не приводил к увеличению содержания триптофана до значений шкалы ФАО/ВОЗ.

В связи с этим представляло интерес сравнительное сопоставление содержания аминокислот в ферментолизате спизулы в среде молочной сыворотки с адекватным уровнем потребления, согласно методическим рекомендациям «Рекомендуемые уровни потребления пищевых и биологически активных веществ» (2004) (табл. 3.30).

Таблица. 3.30 – Расчёт соответствия адекватному уровню потребления

Аминокислота	Адекватный уровень потребления, г	Скор аминокислот, мг/г	Доля от адекватного уровня, %	
			100 г	60 г
Незаменимые				
Валин	2,5	7,05	28,2	16,9
Изолейцин	2,0	4,88	24,4	14,6
Лейцин	4,6	8,29	18,0	10,8
Лизин	4,1	4,42	10,8	6,5
Треонин	2,4	4,59	19,1	11,5
Триптофан	0,8	0,35	4,4	2,6
Небелковые			мг	
Таурин	Не нормируется	19,71	1971,0	1182,6
Орнитин	Не нормируется	0,44	44,0	26,4

Согласно данным табл. 3.30 количество валина и изолейцина в 60 г продукта соответствует 15 % адекватного уровня потребления аминокислот. При этом в

100 г продукта 15 %-му уровню адекватного потребления не соответствуют только триптофан и лизин.

Помимо незаменимых аминокислот в продукте обнаружены аминокислоты ненормального строения, такие как таурин, саркозин, орнитин и карнозин. Перечисленные аминокислоты обладают высокой физиологической активностью.

Таурин представляет собой серосодержащую аминокислоту, не входящую в состав белков и образующуюся в процессе метаболизма метионина. Структурная простота этой небелковой β-аминокислоты сопровождается сложностью и разнообразием биологических эффектов, что позволяет поставить ее в один ряд с важнейшими биологически активными веществами. Она входит в состав желчи, участвует в регуляции уровня холестерина в крови и в процессах абсорбции жирорастворимых витаминов. Таурин необходим для осуществления функции зрения. Высказывалось предположение о его необходимости как нейромедиатора в процессе трансляции светового импульса в нервный сигнал, в дальнейшем была доказана особо важная роль таурина в функции фоторецепторной клетки. Также известно кардиопротекторное действие таурина.

Таурин оказывает тонизирующее действие на сердечную мышцу, и поэтому может быть использован при лечении хронической сердечной недостаточности (Аюшин, 2001). Также установлено, что таурин способствует улучшению памяти и умственной работоспособности, повышению концентрации внимания, редукции неврозоподобных и сомато-вегетативных нарушений, положительно влияет на высшие корковые функции головного мозга.

Орнитин – это родственная аргинину аминокислота. Лечебные препараты с добавлением биологически активного компонента применяются в терапии следующих болезней: гепатит; почечная недостаточность; цирроз печени; белковая недостаточность; превышение содержания в крови мочевины.

Орнитин, как гепатопротектор, является мощным защитником организма. Применение аминокислоты положительно сказывается на регенерации и восстановлении клеток печени. При этом орнитин защищает организм от негативного воздействия токсических веществ, что значимо для людей с нарушениями работы печени.

Орнитин обладает еще рядом свойств: укрепление иммунитета и, как следствие, повышение сопротивляемости организма заболеваниям; укрепление соединительных тканей; генерирование энергии в процессе расщепления жиров; восстановление мышц; поддержание кислотно-щелочного баланса организма.

Таким образом, проведенное исследование показало перспективность биоконверсии двустворчатых моллюсков с использованием молочной сыворотки. Процесс ферментолиза сырья позволяет получить продукты с содержанием свободных аминокислот, соответствующим «идеальному» белку. Исключением является ферментолизат корбикулы с использованием молочной сыворотки. В то же время данный ферментолизат характеризуется наибольшим содержанием небелковых аминокислот, таких как таурин и орнитин.

Обоснованность технологического решения процесса биоконверсии моллюсков с использованием молочной сыворотки подтверждена патентом (Пат. РФ. 2580157).

3.5 Разработка и обоснование принципиальной схемы получения сухих ферментолизатов моллюсков

Дегустационная оценка образцов исследуемых ферментолизатов моллюсков показала, что они сохраняют приятный вкус, запах и цвет в течение 12-месячного срока хранения.

Органолептическая оценка ферментолизатов моллюсков была подтверждена результатами микробиологических исследований, которые показали, что после 18-месячного срока хранения они соответствуют нормам ТР ТС 021/2011 (табл. 3.31).

На основании проведенных исследований была разработана технологическая схема получения сухих ферментолизатов моллюсков с использованием молочной сыворотки (рис. 3.4).

Основными операциями в технологии сухих ферментолизатов являются: подготовка сырья, измельчение, приготовление ферментного препарата,

ферментативный гидролиз (совместно с молочной сывороткой), инактивация, фильтрация, сублимационная сушка, измельчение, взвешивание и упаковка.

Стадия подготовки сырья. На данном этапе сырье сортируют, моют для удаления посторонних включений, песка или ила, а также осуществляется разделка. Моллюски промывались в проточной питьевой воде. Промытые моллюски сортировали, отделяя поврежденные и уснувшие раковины. Затем створки крупных раковин двустворчатых моллюсков вскрывали с помощью ножей, мягкие ткани осторожно отделяли от створок и направляли на измельчение. Возможно использование корбикулы без разделки, для этого производится расчет соотношения массы мягких тканей к массе целого моллюска.

Таблица 3.31 – Микробиологические показатели продуктов, полученных методом совместного ферментолиза, в процессе хранения при температуре минус 18 °С

Фермент	Срок хранения, мес.	КМАФАнМ, КОЕ/г		
		Спизула	Мерценария	Корбикула
Протамекс	1	$2{,}0 \cdot 10^3$	$2{,}2 \cdot 10^3$	$1{,}2 \cdot 10^3$
	5	$2{,}4 \cdot 10^3$	$3{,}7 \cdot 10^3$	$2{,}2 \cdot 10^3$
	7	$2{,}5 \cdot 10^3$	$4{,}0 \cdot 10^3$	$3{,}0 \cdot 10^3$
	10	$2{,}8 \cdot 10^3$	$5{,}5 \cdot 10^3$	$2{,}5 \cdot 10^3$
	12	$3{,}3 \cdot 10^3$	$6{,}5 \cdot 10^3$	$3{,}0 \cdot 10^3$
	16	$3{,}7 \cdot 10^3$	$7{,}3 \cdot 10^3$	$3{,}8 \cdot 10^3$
	18	$1{,}0 \cdot 10^4$	$8{,}5 \cdot 10^3$	$1{,}0 \cdot 10^4$
	22	$3{,}1 \cdot 10^4$	$1{,}0 \cdot 10^4$	$2{,}5 \cdot 10^4$
	24	$4{,}2 \cdot 10^4$	$2{,}5 \cdot 10^4$	$3{,}8 \cdot 10^4$
Мегатерин	1	$1{,}9 \cdot 10^3$	$2{,}2 \cdot 10^3$	$1{,}2 \cdot 10^3$
	5	$2{,}2 \cdot 10^3$	$2{,}9 \cdot 10^3$	$1{,}4 \cdot 10^3$
	7	$2{,}4 \cdot 10^3$	$3{,}2 \cdot 10^3$	$1{,}8 \cdot 10^3$
	10	$2{,}7 \cdot 10^3$	$3{,}4 \cdot 10^3$	$2{,}2 \cdot 10^3$
	12	$3{,}1 \cdot 10^3$	$3{,}5 \cdot 10^3$	$2{,}9 \cdot 10^3$
	16	$3{,}4 \cdot 10^3$	$3{,}8 \cdot 10^3$	$3{,}1 \cdot 10^3$
	18	$3{,}7 \cdot 10^3$	$4{,}0 \cdot 10^3$	$3{,}5 \cdot 10^3$
	22	$4{,}2 \cdot 10^3$	$4{,}3 \cdot 10^3$	$4{,}0 \cdot 10^3$
	24	$4{,}7 \cdot 10^3$	$4{,}8 \cdot 10^3$	$4{,}7 \cdot 10^3$
ТР ТС 021/2011		$5{,}0 \cdot 10^4$		

Примечание: $p \leq 0{,}05$.

Для получения одной партии ферментолизата использовали каждый вид моллюска отдельно.

Измельчение. Мягкие ткани моллюсков измельчали на пищевом измельчителе с диаметром отверстий 2–3 мм до однородного состояния.

Измельченное сырье загружали в реактор, добавляли молочную сыворотку в соотношении 1,0 : 0,5–1,0 и раствор ферментного препарата (мегатерин или протамекс) в количестве 0,5–2,0 Е/г ткани.

Рисунок 3.4 – Принципиальная технологическая схема изготовления сухих ферментолизатов

Содержимое реактора нагревали до температуры 37–40 ^{0}С. Процесс *ферментолиза* проводили в течение 2,5–3,0 ч при периодическом перемешивании.

По завершении процесса ферментолиза проводилась *инактивация* ферментного препарата, для чего температуру в реакторе с ферментолизатом доводили до 80 ^{0}С и выдерживали ее в течение 20 мин.

Горячий ферментолизат сливали и без задержки подавали на *фильтрацию*, где в процессе он постепенно охлаждался, после чего охлажденный гидролизат разливали в кюветы. Кюветы направляли на замораживание до температуры –40 ^{0}С. Возможна замена фильтрации центрифугированием при 3,5 тыс. об/мин. в течение 20 мин.

Сушка. Для сушки ферментолизата использовалась сублимационная сушка. Параметры процесса сушки: температура в зоне сублимации –40 ^{0}С, остаточное давление 8–10 Па, по достижении температуры полок плюс 30–35 ^{0}С продукт выдерживается 2 ч. Массовая доля влаги в конечном продукте не более 10 %.

Измельчение. Готовый сухой продукт измельчали до порошкообразного состояния на мельницах и аппаратах для тонкого измельчения, просеивали, взвешивали, фасовали в металлопластиковые пакеты массой 40 г и направляли на хранение.

Хранение осуществлялось при температуре 20 ^{0}С и влажности не более 80 %.

Обоснование срока хранения проводилось по динамике показателя общего микробного числа опытных образцов во времени (табл. 3.32).

Таблица 3.32 – Микробиологические показатели сублимированных ферментолизатов в процессе хранения при температуре 4 ^{o}С

Срок хранения, мес.	1	2	4	6	8	12	13
КМАФАнМ, КОЕ/г	$2,5 \cdot 10^2$	$3,1 \cdot 10^3$	$3,9 \cdot 10^3$	$4,6 \cdot 10^3$	$8,5 \cdot 10^3$	$3,9 \cdot 10^4$	$4,3 \cdot 10^4$
ТР ТС 021/2011	$5 \cdot 10^4$						

Примечание: $p \leq 0,05$.

Проведенное исследование показало, что по микробиологическим показателям сублимированные ферментолизаты соответствуют ТР ТС 021/2011.

3.6 Биологическая ценность ферментолизатов моллюсков

3.6.1 Определение общей биологической ценности

В настоящее время в связи с активацией и прогрессированием серьезных заболеваний человека на фоне регресса иммунной системы под влиянием окружающей среды, а главное в большей степени употреблением в пищу человеком рафинированных продуктов, особенно остро стоит проблема создания продукции, обогащенной компонентами с лечебно- профилактическим эффектом – парафармацевтиками (ПФЦ) или минорными биологически активными компонентами пищи. Они позволяют разработать продукты питания нового поколения, или так называемые функциональные изделия, употребление которых в пищу благотворно влияет на одну или несколько физиологических функций человека.

Большое значение для жизнедеятельности людей имеет не только качественный состав пищи, но и способность ее усвоения. От правильного соотношения необходимых для нормального функционирования органов и тканей компонентов пищевых продуктов зависит в конечном счёте не только продолжительность жизни человека, но и ее качество. Поэтому одними из требований к качеству пищевых продуктов из двустворчатых моллюсков являются их безопасность для здоровья человека, стабильность в процессе хранения и реализации. Для потребителя особое значение имеет безопасность и относительная биологическая ценность. Достоверным методом определения общей биологической ценности (ОБЦ) и безвредности (БПП) продукта является метод исследования продукта на живой клетке инфузории *Tetrahymena pyriformis* класса *Ciliata* (Игнатьев, 1978).

Tetrahymena pyriformis, как тест-объект, признана всемирным научным сообществом и востребована из-за своих уникальных характеристик, которые обусловливают ее абсолютную рациональность как при использовании, так и при содержании, что очень важно для высокой достоверности полученных результатов.

Тест-культуры *Tetrahymena pyriformis* имеют двойной тип пищеварения (кислотный и щелочной), им требуются все незаменимые аминокислоты, расщепле-

ние пептидных связей происходит без предварительного гидролиза, т.е. тетрахимена имеет адекватные высшим животным ферментные системы. Ядовитые вещества для человека и высших животных воздействуют и на *T. pyriformis*. Угнетение подвижности, гибель единичных особей инфузории или их деформация свидетельствуют о токсичности данного продукта.

Исследования проводились в соответствии с Инструкцией по санитарно-микробиологическому контролю производства пищевой продукции из рыбы и морских беспозвоночных (1991).

Было проведено исследование БПП следующих продуктов: № 1 – гидролизат моллюска (фермент «Протамекс»); № 2 – гидролизат моллюска с добавлением молочной сыворотки после гидролиза сырья (фермент «Протамекс»); № 3 – совместный гидролиз (моллюск, сыворотка, фермент «Протамекс»); № 4 – гидролизат моллюска (фермент «Мегатерин»); № 5 – гидролизат моллюска с добавлением молочной сыворотки после гидролиза сырья (фермент «Мегатерин»); № 6 – совместный гидролиз (моллюск, сыворотка, фермент «Мегатерин»); № 7 – контроль – казеин, – которые вносили в пробирки с 2 мл стерильной воды и закрывали стерильными пробками. Результаты исследования БПП ферментолизатов представлены на рис. 3.5–3.7.

Все пробы контролировали методом микроскопии каждые сутки. Проведенные исследования показали, что признаки токсичности исследованных образцов продуктов отсутствовали. Инфузория была активна, подвижна, замедление роста и гибели единичных клеток не наблюдалось.

Данные проведенных исследований показывают, что более благотворно на рост и развитие простейших влияют исследуемые образцы, содержащие в своем составе сыворотку. Данная тенденция свойственна для всех исследуемых образцов, так как образцы, содержащие в своем составе сыворотку, обладают максимальными показателями прироста простейших.

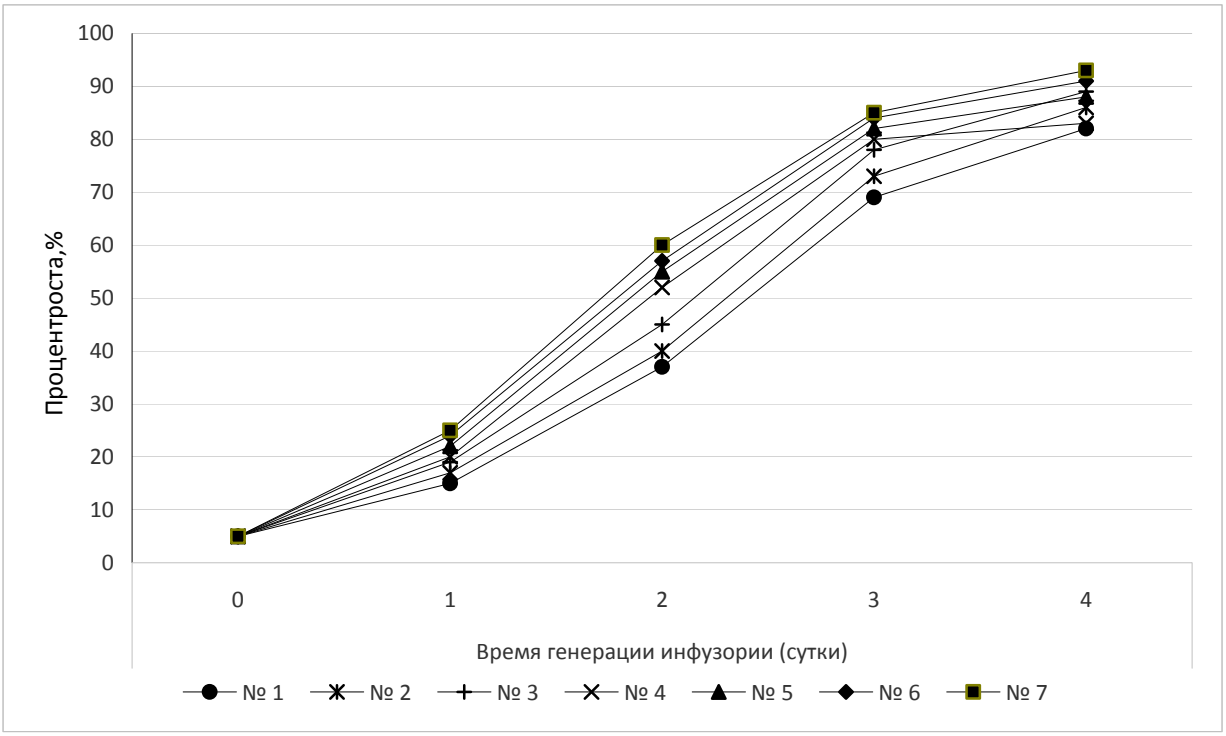

Рисунок 3.5 – Оценка роста *Tetrahymena pyriformis* в образцах ферментолизатов мерценарии в течение 4 сут

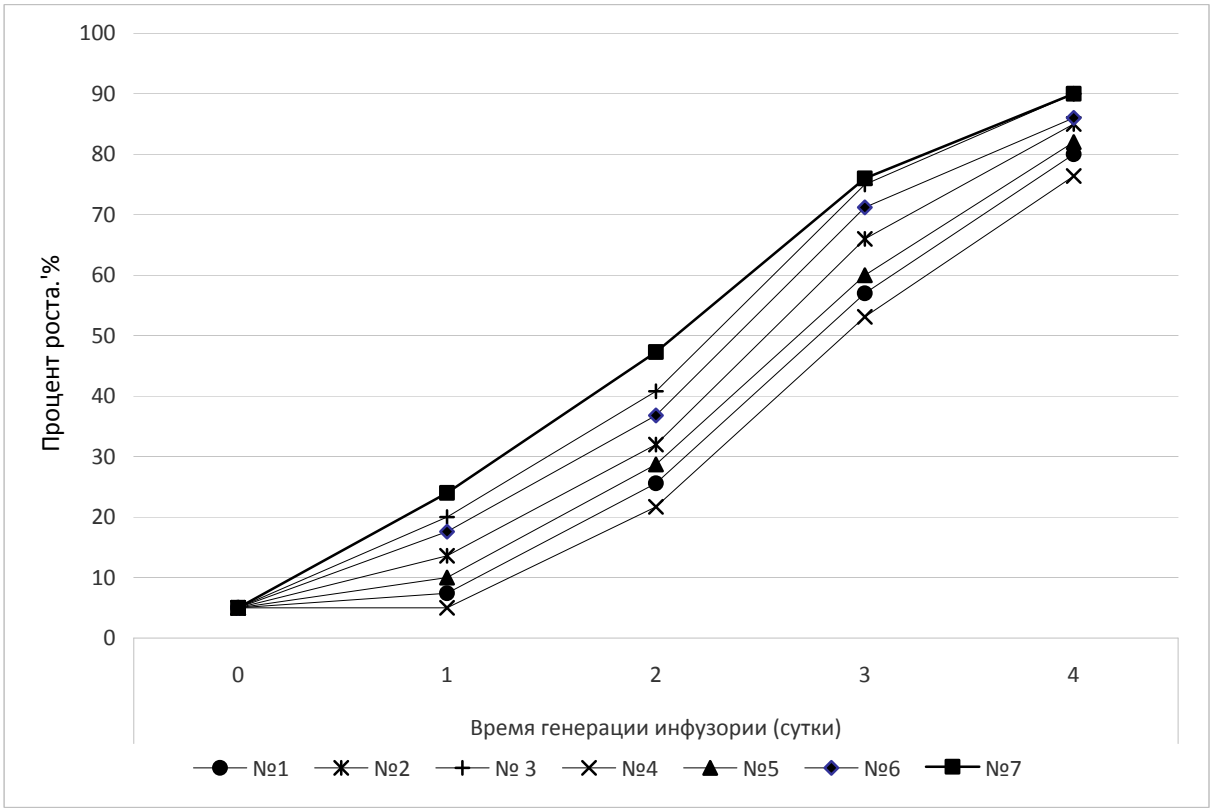

Рисунок 3.6 – Оценка роста *Tetrahymena pyriformis* в образцах спизулы в течение 4 сут

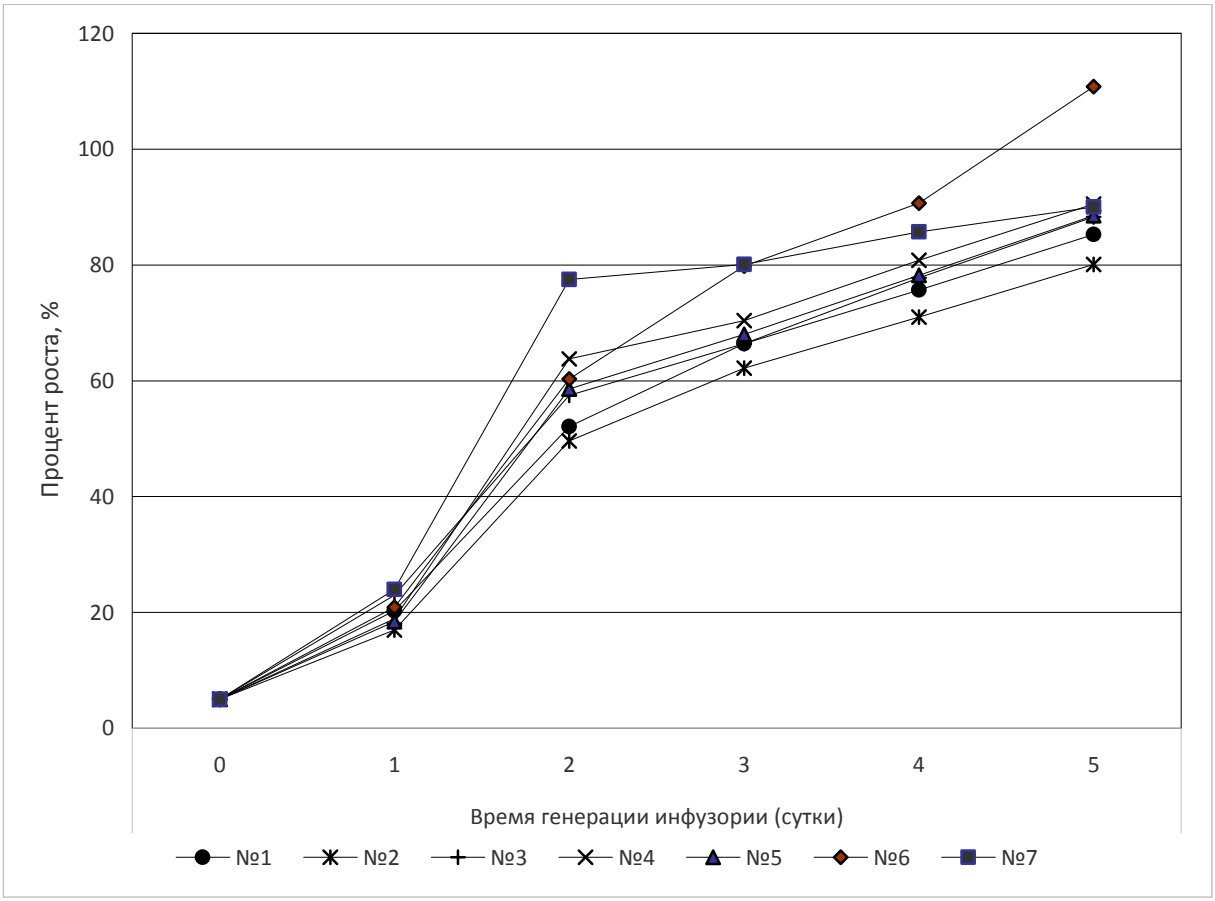

Рисунок 3.7 – Оценка роста *Tetrahymena pyriformis* в образцах корбикулы в течение 6 сут

Установлено, что при совместном ферментолизе мягких тканей моллюсков и молочной сыворотки под действием мегатерина и протамекса, в образцах № 3 и № 6 количество выросших особей близко к эталонному (контрольному) образцу № 7. Отметим, что в исследуемых образцах № 2 и № 5, также содержащих сыворотку, наблюдается выявленная тенденция активного прироста по сравнению с образцами без сыворотки. Хотелось бы отметить, что образец № 3 обладал исключительной активностью на четвертые сутки экспозиции и по исследуемым критериям (активность и количество клеток) соответствовал эталонному образцу № 7. Клетки простейших с внесением образца № 3 имели одинаковые размерные параметры (0,24–0,30 мкм) и форму, что свойственно только для специально синхронизированных простейших, которых готовят к исследованиям. Выявленная тенденция, по нашим предположениям, напрямую указывает на синергический эффект между сывороткой и ферментолизатом (протамекс), что проявилось в

формировании иммунных и генетических параметров, регламентирующих стабильно активное развитие микросистемы. Однако следует заметить, что при рассмотрении образца № 1 выявлено, что клетки обладали максимальными размерами (0,25–0,35 мкм) из всех исследуемых образцов.

Для определения ОБЦ были взяты 6 вариантов образцов с нумерацией, аналогичной таковой при определении БПП. Из образцов отбирали навески, концентрация протеина в которых соответствовала 0,2 %. При оценке казеина среднюю пробу разводили водой для получения концентрации протеина 0,2 %.

Динамику роста и развития простейших наблюдали в течение 4 сут, чтобы выявить влияние исследуемых проб на живую клетку тест-культуры *Tetrahymena pyriformis*.

Результаты исследования представлены в табл. 3.33–3.35.

Таблица 3.33 – Оценка роста и развития инфузории в ферментолизатах мерценарии

№ образца	Время генерации инфузории, сут					ОБЦ, %
	0	1	2	3	4	
	Протамекс					
1	5	15	37	69	82	88.1
2	5	17	40	73	86	92.4
3	5	19	45	78	89	95.6
	Мегатерин					
4	5	20	52	80	83	89.2
5	5	22	55	82	88	94.6
6	5	24	57	84	91	97.8
	Контроль (казеин)					
7	5	25	60	85	93	100,0

Примечания. Образцы № 1 и № 4 – ферментолизаты мягких тканей моллюсков; № 2 и № 5 – ферментолизаты моллюсков с добавлением молочной сыворотки; № 3 и № 6 – ферментолизаты мягких тканей моллюсков в среде молочной сыворотки; № 7 – казеин. $p \leq 0,05$.

Данные проведенных исследований показывают, что благотворно влияют на рост и развитие простейших все исследованные ферментолизаты моллюсков. Образцы № 1 и № 4 (ферментолизаты моллюсков) стимулируют деление клеток, размеры которых (0,25–0,30 мкм) соответствуют контрольному образцу № 7 (ка-

зеин). Также установлено, что генерация простейших в пробах № 2, № 3, № 5, № 6 имеет максимальные размеры клеток (0,25–0,35 мкм), которые проявляют большую двигательную активность в сравнении с образцами № 1 и № 4. Исследуемые пробы представленных образцов обладают биологической ценностью и, как показывает время генерации инфузории (смена поколений), благотворно влияют на жизнедеятельность и развитие живой клетки по поколениям (Есипенко, Ковалев, 2016).

Таблица 3.34 – Оценка роста и развития инфузории в ферментолизатах спизулы

№ образца	Время генерации инфузории, сут					ОБЦ, %
	0	1	2	3	4	
	Протамекс					
1	5	7,4	25,6	57,0	80,0	88,8
2	5	13,6	32,0	66,0	85,0	94,4
3	5	20,0	40,8	75,0	90,0	100,0
	Мегатерин					
4	5	5,0	21,7	53,1	76,4	85,5
5	5	10,0	28,7	60,0	82,0	91,1
6	5	17,6	36,8	71,2	86,0	95,5
	Контроль (казеин)					
7	5	24,0	47,3	76,0	90,0	100,0

Примечания. Обозначение образцов как в табл. 3.33. $p \leq 0,05$.

Таблица 3.35 – Оценка роста и развития инфузории в ферментолизатах корбикулы

№ образца	Время генерации инфузории, сут						ОБЦ, %
	0	1	2	3	4	5	
Протамекс							
1	5	20,3	52,1	66,4	75,7	85,3	94,8
2	5	17,0	49,6	62,2	71,0	80,1	89,0
3	5	23,0	57,5	66,4	77,8	88,3	98,1
Мегатерин							
4	5	18,9	63,8	70,4	80,8	90,5	100,5
5	5	18,4	58,6	68,0	78,2	88,5	98,3
6	5	20,9	60,3	79,8	90,7	110,8	123,1
Контроль (казеин)							
7	5	24,0	77,5	80,1	85,7	90,0	100,0

Примечания. Обозначение образцов как в табл. 3.33. $p \leq 0,05$.

Проведенное исследование позволило сделать предположение, что содержащаяся в продуктах молочная кислота будет сдерживать развитие, рост микро-

мицетов, споровых, сапрофитов, болезнетворных бактерий, переводя их в состояние анабиоза, что позволит продлить время хранения функционального продукта. Для проверки данного предположения проведено сравнение влияния молочной сыворотки на ОБЦ ферментолизатов моллюсков (табл. 3.36).

В сравнительном исследовании за 100 % приняты значения ОБЦ для ферментолизатов без внесения молочной сыворотки. Как видно из данных табл. 3.36, в случае использования в качестве сырья мягких тканей мерценарии добавление молочной сыворотки к ферментолизату сопровождалось увеличением ОБЦ на 4,9–6,1 % при использовании соответственно протамекса и мегатерина. Проведение совместного ферментолиза мягких тканей моллюска и молочной сыворотки увеличивало ОБЦ на 8,5–9,6 %.

Таблица 3.36 – Сравнительная характеристика ОБЦ ферментолизатов моллюсков, %

Моллюск	Протамекс			Мегатерин		
	№ 1	№ 2	№ 3	№ 4	№ 5	№ 6
Мерценария	100	104,9	108,5	100	106,1	109,6
Спизула	100	106,6	111,7	100	106,3	112,6
Корбикула	100	93,9	103,5	100	96,7	122,4

Примечание. Обозначение образцов как в табл. 3.33.

Тенденция увеличения ОБЦ также отмечена и для ферментолизатов из мягких тканей спизулы. Внесение молочной сыворотки в ферментолизаты увеличивало ОБЦ на 6,6–6,3 %, а совместный ферментолиз – на 11,7–12,6 % при использовании соответственно протамекса и мегатерина.

Использование для ферментолиза мягких тканей корбикулы протамекса показало, что внесение в ферментолизат молочной сыворотки приводило к снижению его ОБЦ на 6,1 %. Совместный ферментолиз повышал ОБЦ только на 3,5 %. Тенденция снижения ОБЦ для ферментолизата тканей корбикулы с внесением молочной сыворотки отмечена и при использовании мегатерина (на 3,3 %). Однако совместный ферментолиз тканей корбикулы и молочной сыворотки способствовал повышению ОБЦ продукта на 22,4 %.

Полученные данные свидетельствуют, что препараты ферментолизатов моллюсков с молочной сывороткой (совместный ферментолиз), независимо от типа используемого фермента, повышают ОБЦ продуктов. При этом выявлено, что препараты, полученные из спизулы и мерценарии, с использованием мегатерина характеризуются приростом ОБЦ только на 1 % по сравнению с препаратами, полученными с использованием протамекса.

В то же время следует отметить, что наибольшее значение биологической ценности выявлено для препарата из корбикулы, полученного при совместном ферментолизе ее тканей с молочной сывороткой. Причем ОБЦ данного продукта была на 18,9 % выше по сравнению с ОБЦ продукта, полученного при добавлении сыворотки к ферментолизату корбикулы (Есипенко, 2014).

Выявленные различия показателей ОБЦ могут быть объяснены составом полученных продуктов. Так, известно, что белки, содержащиеся в молочной сыворотке и концентратах сывороточных белков, обладают ценными биологическими свойствами. Наибольшее практическое значение имеют β-лактоглобулин и α-лактоальбумин, доля которых в сывороточных белках составляет 70–80 %. Из литературных данных известно, что сывороточный белок β-лактоглобулин, содержащийся в коровьем молоке, обладает ярко выраженными антигенными свойствами (Просеков, 2013). Наиболее эффективным способом уменьшения аллергенности белков молочной сыворотки считают проведение гидролиза, в результате которого образуются белковые гидролизаты – продукты с высоким содержанием свободных аминокислот и низкомолекулярных полипептидов (Максимюк, 2009).

Известно, что использование ферментного препарата «Протамекс» обеспечивает глубину гидролиза сывороточных белков до 41–72 % от общего содержания белка (Просеков, 2013). Качественные преимущества гидролизатов молочной сыворотки заключаются в низкой остаточной антигенности и высокой биологической ценности. Ферментолиз способствует накоплению протеозо-пептонной фракции молочной сыворотки (молекулярная масса < 5000 Да). По-видимому, именно повышение количественного содержания низкомолекулярных белков, пептидов и свободных аминокислот является причиной высокой ОБЦ полученных продуктов.

3.6.2 Антирадикальная активность ферментолизатов моллюсков

Из литературы известно, что свободные аминокислоты являются слабыми антиоксидантами, но комплексы аминокислот и дипептидов, включая гистидин-содержащие дипептиды, способны дополнять и усиливать друг друга, обеспечивая увеличение эффекта (Давидович, 2001, 2006).

Для определения антиокислительной активности ферментолизатов мягких тканей моллюсков и оценки влияния способов введения молочной сыворотки на данный показатель была проведена серия экспериментов по определению их способности подавлять реакцию окисления ABTS пероксильными и алкоксильными радикалами, образующимися при термическом (37 ^{o}C) разложении ABAP (2,2'-азобис (2-аминопропан) гидрохлорид) (Bartosz, 1998).

Результаты проведенного исследования представлены в табл. 3.37.

Таблица 3.37 – Антирадикальная активность продуктов из двустворчатых моллюсков и использованием молочной сыворотки, мкмоль/кг сухого веса

Образец	Фермент	Корбикула	Мерценария	Спизула
№ 1	Протамекс	8,72	14,29	8,12
№ 2		9,65	18,31	6,87
№ 3		6,35	16,57	6,24
№ 4	Мегатерин	10,40	10,69	3,07
№ 5		10,60	21,45	7,13
№ 6		8,33	13,70	7,97

Примечания. Обозначение образцов как в табл. 3.33. $p \leq 0,05$.

Во-первых, следует отметить, что ферментолизаты моллюсков характеризуются различным уровнем антирадикальной активности (АРА). Наибольшую АРА проявлял продукт из мерценарии (14,29 мкмоль/кг), в то время как ферментолизат мягких тканей спизулы проявлял незначительную (3,07 мкмоль/кг) антирадикальную активность.

Во-вторых, внесение молочной сыворотки в ферментолизаты моллюсков сопровождалось увеличением их антиокислительной способности. Исключение составляет ферментолизат спизулы, полученный с использованием протамекса, обогащение которого молочной сывороткой сопровождалось снижением АРА.

Наибольшее увеличение антиокислительной активности при обогащении продуктов отмечено для мерценарии: внесение молочной сыворотки в ферментолизат, полученный с использованием протамекса, увеличивало его АРА на 4,02 мкмоль/кг, а при использовании мегатерина – на 10,76 мкмоль/кг. Следует также отметить, что продукт, полученный из спизулы (фермент – мегатерин), при обогащении сывороткой был в 2,3 раза более эффективным окислителем по сравнению с ферментолизатом без добавления сыворотки. В случае корбикулы обогащение ферментолизата мягких тканей сывороткой не оказывало влияния на антиокислительную способность продукта.

Проведение совместного ферментолиза мягких тканей моллюсков и молочной сыворотки приводило к снижению АРА в продуктах по сравнению с продуктами, обогащенными молочной сывороткой. При этом АРА продуктов совместного ферментолиза практически во всех случаях оказалась ниже, чем у продуктов, полученных при ферментолизе мягких тканей моллюсков.

Исключением является продукт, полученный при ферментолизе мягких тканей спизулы и молочной сыворотки. В данном случае совместный ферментолиз не оказывал влияния на антирадикальную активность продукта.

Таким образом, в результате проведенного исследования следует сделать заключение, что обогащение ферментолизатов моллюсков увеличивает антирадикальную емкость продуктов. Наибольшей антирадикальной активностью характеризуются продукты ферментолиза мерценарии, обогащенные молочной сывороткой. По-видимому, данный факт можно объяснить наличием в молочной сыворотке мезопептонной фракции низкомолекулярных пептидов, для которых характерна высокая антирадикальная активность (Просеков, 2013). В целом следует отметить, что совместный ферментолиз понижает антирадикальную активность полученных ферментолизатов, в сравнении с продуктами ферментолиза в водной среде для корбикулы и спизулы при использовании протамекса, и корбикулы в случае использования мегатерина (Есипенко, 2017).

3.7 Обоснование и разработка технологии пищевых ферментолизатов моллюсков и продуктов на их основе

3.7.1 Обоснование и разработка технологии сухих первых блюд на основе ферментолизатов моллюсков

Определяющим фактором продукта типа формованных сухих первых блюд является консистенция готового к употреблению продукта. Для составления рецептуры количественного внесения структурообразователей проведена серия экспериментов по определению вязкости растворов вносимых компонентов, их смесей с ферментолизатом мерценарии.

На первом этапе определяли вязкость раствора смеси ферментолизата моллюсков с глюконо-дельта-лактоном, который представляет собой белый кристаллический порошок, без запаха, способный образовывать с водой систему типа золь-гель. Глюконо-дельта-лактон широко используется в пищевой, химической, фармацевтической промышленностях, в производстве косметики, средствах для органического синтеза. Он не токсичен для человека, безвреден, является хорошим стабилизатором, коагулянтом и хелатообразователем. Обладает способностью улучшать внешний вид продуктов, продлевает срок годности, является регулятором кислотности (Майоров, 2012).

Была проведена серия экспериментов с целью оценки влияния глюконо-дельта-лактона на вязкость и стабильнось белковых растворов. Степень стабильности оценивали по массе высушенного нерастворимого осадка, отделяемого фильтрованием. В качестве модельной системы использовали раствор ферментолизата моллюсков с концентрацией 2,5 мг/мл.

Полученные экспериментальные данные представлены в табл. 3.38.

Исследованные образцы различались растворимостью ферментолизатов в зависимости от концентрации дельта-лактона в системе. Как видно из представленных в табл. 3.38 данных, вязкость исследованных растворов не изменялась при использовании дельта-лактона в концентрациях более 5,0 мг/мл. Таким образом,

наибольшей растворимостью ферментолизата моллюсков характеризуются растворы с низкой концентрацией дельта-лактона.

Таблица 3.38 – Определение вязкости растворов ферментолизата моллюска с глюконо-дельта-лактоном

Ферментолизат, г/мл	Дельта-лактон, мг/мл	Вязкость, мм^2/с	Осадок, %
2,5	0	0,50	11,3
	1,0	0,76	15,2
	2,5	0,98	17,4
	5,0	1,00	37,2
	10,0	1,01	57,4
	15,0	1,03	96,4

Примечание: $p \leq 0,05$.

С целью повышения органолептических свойств полученных продуктов в рецептуру смеси компонентов был внесен альгинат натрия. Для него характерен широкий разброс значений вязкости. Вязкотекучие свойства альгината сохраняются в широком интервале температур. Вязкость растворов альгинатов уменьшается приблизительно на 2,5 % при повышении температуры на каждый градус. Эти изменения обратимы, растворы вновь приобретают начальную вязкость при охлаждении (Суховеева, 2006). Альгинат натрия выполняет роль суспендирующего агента за счёт способности уменьшать скорость седиментации суспензий вследствие сгущения растворов. В других случаях суспендирующий эффект достигается за счёт отрицательного заряда молекулы альгината и её коллоидных размеров, что даёт возможность образования защитных оболочек вокруг частиц в растворе. Эффективность использования альгината натрия как стабилизатора эмульсий в основном сводится к его загущающей способности, хотя в некоторых случаях его способность к образованию защитных оболочек тоже важна (Тагер, 2007).

Поскольку вязкость гелей солей альгиновой кислоты зависит от концентрации полисахарида, проведена оценка влияния различных концентраций альгината

натрия в трехкомпонентной системе. Полученные данные представлены в табл. 3.39.

Как видно из представленных в табл. 3.39 данных, вязкость растворов увеличивается по мере повышения концентрации альгината натрия. При этом количество отделяемой при синерезисе жидкости практически не изменяется в пределах вносимых концентраций альгината натрия 1,0–1,5 %.

Таблица 3.39 – Определение вязкости растворов ферментолизат : дельта лактон : альгинат натрия

Ферментолизат моллюсков, мг/мл	Дельта-лактон, мг/мл	Альгинат натрия, %	Вязкость, $мм^2/с$	Объем жидкости, %
2,5	2,5	0,5	3.09	45,6
		1,0	4.23	39,6
		1,5	5.39	39,8

Примечание: $p \leq 0,05$.

Оценка влияния стабилизатора кислотности на гелеобразующую способность альгината натрия проводилась на модели смеси ферментолизат моллюска : дельта-лактон. Полученные данные представлены в табл. 3.40.

Таблица 3.40 – Определение вязкости растворов ферментолизат : дельта-лактон : альгинат натрия

Ферментолизат моллюсков, мг/мл	Дельта-лактон, мг/мл	Альгинат натрия, мг/мл	Вязкость, $мм^2/с$
2,5	2,5	2,5	7,52
	5,0		7,53
	10,0		7,53
	15,0		7,51

Примечание: $p \leq 0,05$.

Как видно из представленных в табл. 3.40 данных, исследованные образцы не различались по величине кинематической вязкости. Отметим, что внесение в систему ферментолизат : дельта-лактон альгината сопровождалось значительным, 7-

кратным, увеличением вязкости систем. Исходя из представленных в табл. 3.40 данных, следует признать, что дельта-лактон в исследованных концентрациях не оказывал влияния на вязкость системы.

Сопоставление данных табл. 3.39 и 3.40 позволяет сделать заключение, что рациональное количество вносимого в многокомпонентную систему альгината натрия составляет 1,0–1,5 % и дельта-лактона 2,5 мг/мл.

В связи с отмеченным расслоением в многокомпонентных системах представляло интерес исследование влияния количества вносимого ферментолизата моллюсков на вязкость систем. Полученные результаты представлены в табл. 3.41.

Таблица 3.41 – Влияние концентраций ферментолизата на вязкость системы ферментолизат : дельта-лактон : альгинат натрия

Ферментолизат моллюсков, мг/мл	Дельта-лактон, мг/мл	Альгинат натрия, %	Вязкость, $мм^2/с$	Объем жидкости, %
0	2,5	1,5	0,90	2,2
2,5			1,79	8,4
5,0			1,74	9,7
7,5			1,69	14,1
10,0			1,61	24,3
12,5			1,56	31,2
25,0			1,42	49,5

Примечание: $p \leq 0,05$.

Варьирование количественного состава белковой компоненты системы сопровождалось изменением ее вязкости и количества отделяемой жидкости при синерезисе системы. Так, увеличение количества вносимого ферментолизата в 10 раз сопровождалось снижением кинематической вязкости системы на 20,7 %. При этом количество отделяемой жидкости увеличивалось в 5,9 раза. Отметим, что внесение ферментолизата в концентрации более 12,5 мг/мл приводит к резкому увеличению отделяемой при синерезисе жидкой фазы. По-видимому, агрегатное состояние системы в виде жидкого геля препятствует растворению значительного количества вносимого белка.

Основываясь на требованиях ГОСТ 23600-79 к консистенции и внешнему виду супов-пюре, следует признать рациональным количеством вносимого ферментолизата моллюсков в систему альгинат : дельта-лактон 12,5 мг/мл.

Сублимированный продукт с концентрацией ферментолизата 12,5 мг/мл характеризуется хорошо выраженной пористой структурой, однородной эластичной массой, без комков, серо-бежевого цвета. Ярко выраженный солоноватый вкус характерен для основных компонентов смеси. Внесение в рецептуру сублимированного продукта специй усиливает приятные вкусовые качества. Посторонних привкусов и запахов не отмечено. При растворении сублимированного продукта отмечается слегка желирующая, мутноватая консистенция, свойственная супу-пюре.

Органолептические показатели сухих первых блюд, приготовленных по вышеописанному способу, должны соответствовать требованиям, указанным в табл. 3.42

Таблица 3.42 – Органолептические показатели готовой продукции

Нормативный документ	Показатель качества	Параметр качества по ГОСТу	Параметры качества экспериментальной продукции
ГОСТ 23600-79. Концентраты пищевые. Супы сухие с рыбой и морепродуктами. Технические условия	Внешний вид и цвет	Суп-пюре должен иметь однородную массу и цвет, соответствующий продуктам, из которых он приготовлен	Однородная масса темно-бежевого цвета с вкраплениями специй
	Вкус и запах	Свойственные данному виду супа без постороннего и порочащего привкуса и запаха	Вкус и запах, свойственные моллюскам
	Консистенция	Свойственная одноименным супам, сваренным до полной готовности	Свойственная супам-пюре

Физико-химические показатели сухих первых блюд с ферментолизатом моллюсков должны соответствовать нормам, указанным в табл. 3.43.

По физико-химическим показателям: массовая доля влаги, массовая доля минеральных примесей, наличие посторонних примесей, плесени, видимой невооруженным глазом – экспериментальный продукт соответствует требованиям ГОСТ 23600-79 и ТР ТС 027/2012 О безопасности отдельных видов специализированной пищевой продукции, в том числе диетического лечебного и диетического профилактического питания.

Таблица 3.43 – Физико-химические показатели качества сухих первых блюд

Нормативный документ	Показатель качества	Параметр качества	Параметры качества экспериментальной продукции
ГОСТ 23600-79 Концентраты пищевые. Супы сухие с рыбой и морепродуктами. Технические условия	Массовая доля влаги, %, не более	8	8
	Массовая доля жира в пересчете на сухое вещество, %, не менее	2,0	Менее 1 %
	Массовая доля металлопримесей (величина частиц не должна превышать 0,3 мм в наибольшем линейном измерении), %, не более	0,0003	Не обнаружено
	Наличие посторонних примесей, плесени, видимой невооруженным глазом, зараженности амбарными вредителями	Не допускается	Не обнаружено

На основании проведенного исследования разработана рецептура компонентов сухих первых блюд – «Морской обед» – и представлена в табл. 3.44.

Таблица 3.44 – Рецептура и калорийность сухих первых блюд, г/100 г

Жир	Белок	Углеводы	Минеральные вещества	Ккал/100 г
0,5	62	6,9	9,5	280,6

Состав вносимой смеси специй включает укроп сушёный, лук сушёный, базилик, соль.

Рациональным соотношением компонентов в рецептуре сухих продуктов на основе ферментолизата моллюсков следует считать соотношение глюконо-дельта-лактон : альгинат : ферментолизат моллюсков, равное 1,0 : 3,5 : 65,0.

Расчет энергетической ценности продукта проведен на основе состава его компонентов. Как указанно выше, концентрация белка в ферментолизатах моллюсков с использованием молочной сыворотки составляла в среднем 62 %. Наличие углеводов в продукте обусловлено внесением специй растительного происхождения в количестве 1,1 г и внесением альгината натрия. Расчет энергетической ценности проводили путем умножения содержания белка в граммах на коэффициент 4, углеводов – на коэффициент 4. Энергетическая ценность продукта составляет 280,6 ккал на 100 г продукта.

Обоснование срока хранения готового продукта проводилось по показателю общего микробного числа. Результаты исследования представлены в табл. 3.45.

Хранят готовый продукт в термосвариваемых пакетах при температуре от 0 до 20 ^{o}C и относительной влажности воздуха не более 80 %. Срок хранения 18 мес. с даты изготовления.

Таблица 3.45 – Микробиологические показатели сухих первых блюд в процессе хранения

Срок хранения, мес.	1	4	8	12	15	17	19
КМАФАнМ, КОЕ/г	$1,9 \cdot 10^2$	$2,8 \cdot 10^3$	$3,7 \cdot 10^3$	$4,5 \cdot 10^3$	$6,5 \cdot 10^3$	$3,2 \cdot 10^4$	$4,1 \cdot 10^4$
ТР ТС 021/2011	$5 \cdot 10^4$						

Примечание: $p \leq 0,05$.

Проведенное исследование показало, что по микробиологическим показателям суп-пюре соответствуют ТР ТС 021/2011.

Технология приготовления бульона

Обоснованием для разработки технологии бульона являлось определение состава сублимированного ферментолизата моллюсков. Как указанно выше (п. 3.4), 60 г ферментолизата моллюсков обеспечивает ½ адекватной суточной нормы аминокислот.

Для обоснования технологии бульона была проведена серия экспериментов по оценке растворимости в воде с температурой 95–100 °С одной упаковки (60 г) ферментолизата моллюсков. Результаты представлены в табл. 3.46.

Как видно из представленных в табл. 3.46 данных, консистенция, соответствующая жидкому бульону, характерна для соотношения сублимированный ферментолизат : вода – 1 : 10.

Таблица 3.46 – Растворимость ферментолизата моллюсков (консистенция)

Объем воды, мл				
100	150	200	250	300
Мутный желеобразный бульон. Наличие осадка	Желеобразный бульон. Наличие осадка	Желеобразная, без осадка	Жидкий бульон. Осадок отсутствует	Жидкий бульон. Осадок отсутствует

Была проведена органолептическая оценка бульонов с различной концентрацией ферментолизата моллюсков (рис. 3.8).

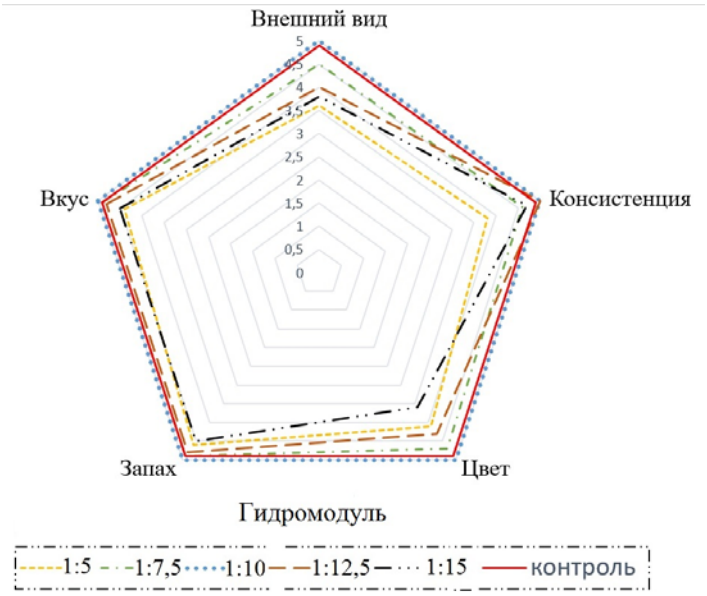

Рисунок 3.8 – Профилограмма органолептических показателей бульонов

Результаты органолептической оценки показали, что наилучшей полнотой показателей характеризуется бульон при соотношении компонентов 1 : 10, что обеспечивает насыщенный запах и вкус, свойственный моллюскам.

Как видно из данных табл. 3.46, рациональным соотношением сублимированный ферментолизат : вода является 1 : 10.

На основании проведенного исследования разработана принципиальная технологическая схема ферментолизатов моллюсков и сухих первых блюд (рис. 3.9).

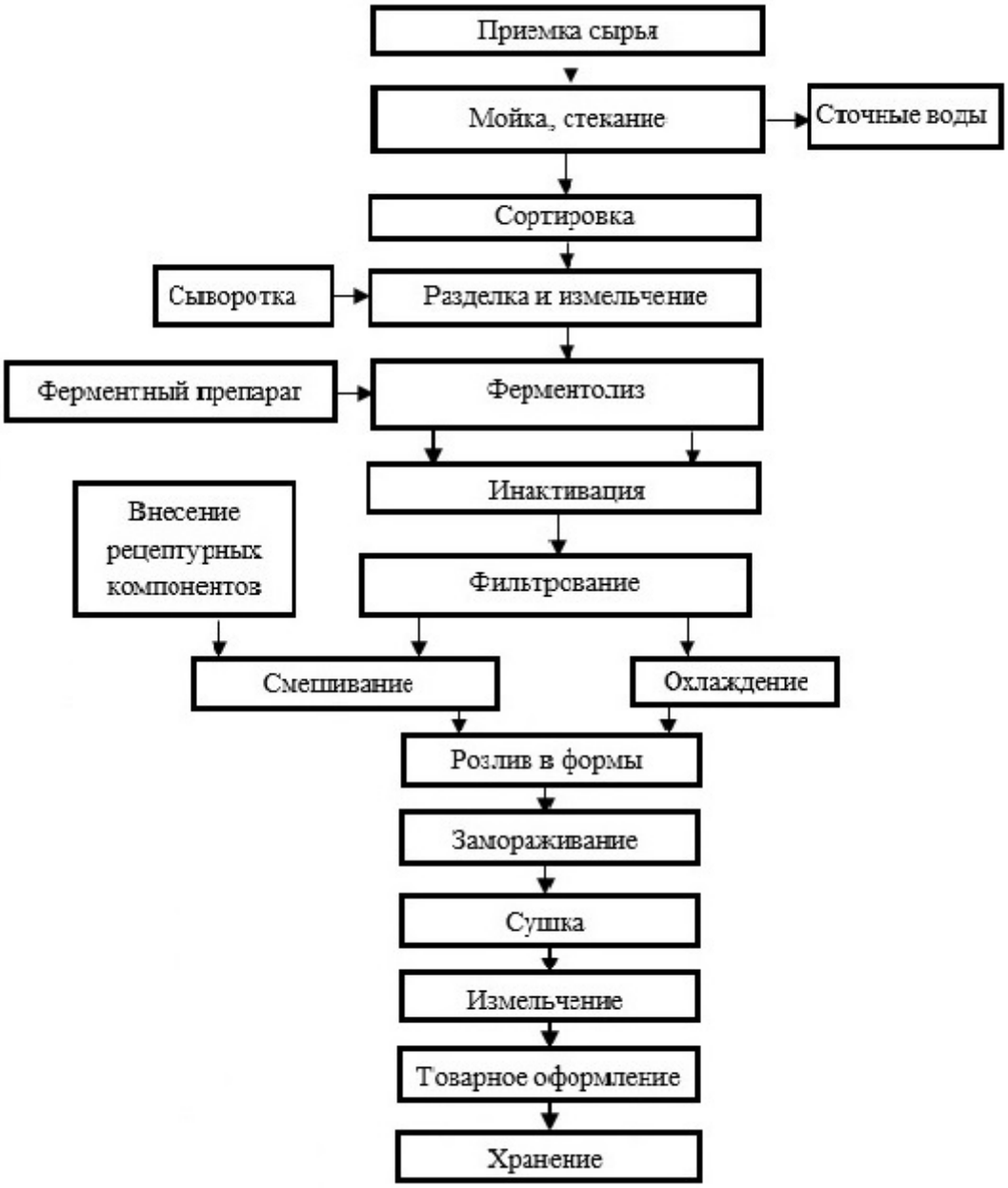

Рисунок 3.9 – Принципиальная технологическая схема ферментолизатов моллюсков и сухих первых блюд

Описание основных этапов:

Прием сырья. Целью этапа является определение качества и количества поступившего сырья. Каждая партия сырья сопровождается документом установленной формы, удостоверяющим ее качество, с указанием в нем следующих данных: наименование предприятия, наименование продукции, номер партии, дата выработки, количество единиц транспортной тары, результаты органолептической оценки, результаты физических и химических испытаний, условия и сроки транспортирования.

Мойка и стекание. Полученное сырье промывается проточной питьевой водой для удаления песка и ила, затем перемещается на перфорированные поддоны для стекания воды.

Сортировка. Промытые моллюски сортируются, отделяются поврежденные и уснувшие раковины.

Разделка. Створки крупных раковин двустворчатых моллюсков вскрывают с помощью ножей, мягкие ткани, осторожно отделяя от створок, направляют на измельчение. Возможно использование корбикулы без разделки, для этого производится расчет соотношения массы мягких тканей к массе целого моллюска.

Для получения одной партии ферментолизата используется каждый вид моллюска отдельно.

Ферментолиз. Целью является получения ферментолизата моллюска по разработанной технологии.

Фильтрование. Цель – отделение возможного осадка в виде частиц неферментолизованных мягких тканей моллюсков.

Охлаждение до температуры 20–25 ^{o}C – стадия технологического процесса получения ферментолизатов моллюсков перед розливом в кюветы для последующей сублимации.

Внесение специй. Смешивание жидкого ферментолизата и сухих компонентов происходит в смесительном баке из нержавеющей стали, снабженном верхнеприводной мешалкой, в который загружают дополнительные компоненты согласно рецептуре. После загрузки компоненты смешиваются в течение 10–12 мин.

При температуре от 20 до 35 ^{o}С. Далее композицию выгружают в накопительный бак полуавтоматического разливного аппарата.

Розлив. Смесь разливают в алюминиевые формы толщиной слоя 3,0 ± ± 0,2 см, на полуавтоматическом разливном аппарате МР-02.

Замораживание. Целью является подготовка полуфабриката к сублимационной сушке. Раствор замораживают при температуре минус 60 ± 5 ^{o}С в течение суток в холодильной камере TefcoldSK 6210.

Сушка. Цель – обезвоживание продукта, увеличение количества сухих веществ. Сублимационную сушку проводят на вакуумном сушильном аппарате UT-4660V полочного типа при начальной температуре –40 ± 2 ^{o}С и температуре досушивания +30 ± 2 ^{o}С. Время процесса сушки 10–12 ч. Остаточная влага в продукте должна составлять 6 %.

Измельчение. Целью является получение порошка однородного состава. Измельчение производят в стерильном помещении при температуре от 18 до 20 ^{o}С и относительной влажности воздуха не более 35–40 %. Измельчение проводят в кондиционированных условиях вследствие высокой гидрофильности продукта.

Фасование. Сублимированный продукт (порошок ферментолизата моллюсков) расфасовывается в вертикальном фасовочно-упаковочном автомате «ПИТПАК 1005М» предельной массой продукта 60 ± 1 г. Аппарат предназначен для упаковки сыпучих продуктов в вакуумные пакеты с проваренными гранями.

Сухие первые блюда фасуют в пакеты из комбинированных термосвариваемых и многослойных полимерных материалов, обеспечивающих сохранность упакованного продукта.

Упаковка. Целью является сохранение качества при хранении и транспортировке.

Пакетированные продукты упаковывают в гофрокороб по ГОСТ 9142-2014, отправляют на склад хранения.

Хранение. Целью является сохранение качества готовых продуктов.

Хранят сублимированный ферментолизат моллюсков в чистых, хорошо вентилируемых помещениях при температуре от 0 до 20 ^{o}С и относительной влажности воздуха не более 80 %.

Срок хранения 12 мес. с даты изготовления.

Сухие первые блюда хранят в сухих, хорошо проветриваемых помещениях при температуре не более 30 ^{o}С, относительной влажности воздуха не более 80 %. Срок хранения продукта 18 мес. с даты изготовления.

На основании проведенного исследования разработан пакет нормативной документации получения сублимированного ферментолизата моллюсков с использованием молочной сыворотки и сухих первых блюд «Морской обед».

3.7.2 Разработка рецептуры и технологии галет

Для создания данного пищевого продукта были произведены пробные выпечки галет с разным количеством ферментолизата моллюсков, полученного способом совместного ферментолиза.

Подбор количества вносимых добавок проводили, основываясь на их влиянии на органолептические свойства продукта и рост дрожжей. Подбор рецептурных компонентов представлен в табл. 3.47.

При пробной выпечке были произведены органолептические исследования продукции (рис. 3.10). В результате выявлено, что с увеличением количества вносимого ферментолизата отмечается появление горького вкуса, а также специфического рыбного запаха, который отрицательно влияет на вкус и аромат изделия. При внесении ферментолизата в количестве от 1 до 3 % отмечается изменение в цвете по сравнению с контролем (темнее изделия с добавлением ферментолизата), а также появляется приятный, неотталкивающий аромат рыбы.

В табл. 3.48 представлены данные об органолептических показателях галет «Арктика М».

Результаты исследований показали, что галеты отличаются гигроскопичностью. Равновесная влажность продукта зависит от относительной влажности воз-

духа и толщины галет: чем она больше, тем больше влаги остается в галетах при выпечке.

Таблица 3.47 – Расход сырья при подборе рецептуры галет «Арктика М» на 1 т готовой продукции, кг

Наименование сырья	Базовая рецептура, кг	Рецептура				
		1	2	3	4	5
Мука пшеничная высший сорт (ГОСТ27839-88)	940,26	939,26	938,26	937,26	936,26	935,26
Сахар-песок (ГОСТ 21-94)	4,71	4,71	4,71	4,71	4,71	4,71
Масло сливочное (ГОСТ 32261-2013)	117,54	117,54	117,54	117,54	117,54	117,54
Соль пищевая (ГОСТ Р 51574-2000)	17,66	17,66	17,66	17,66	17,66	17,66
Сода пищевая (ГОСТ 32802-2014)	1,88	1,88	1,88	1,88	1,88	1,88
Дрожжи прессованные (ГОСТ Р 54731-2011)	28,20	28,20	28,20	28,20	28,20	28,20
Ферментолизат моллюска, %	–	1,0	2,0	3,0	4,0	5,0
Итого (без учета потерь)	1110,25	1110,25	1110,25	1110,25	1110,25	1110,25

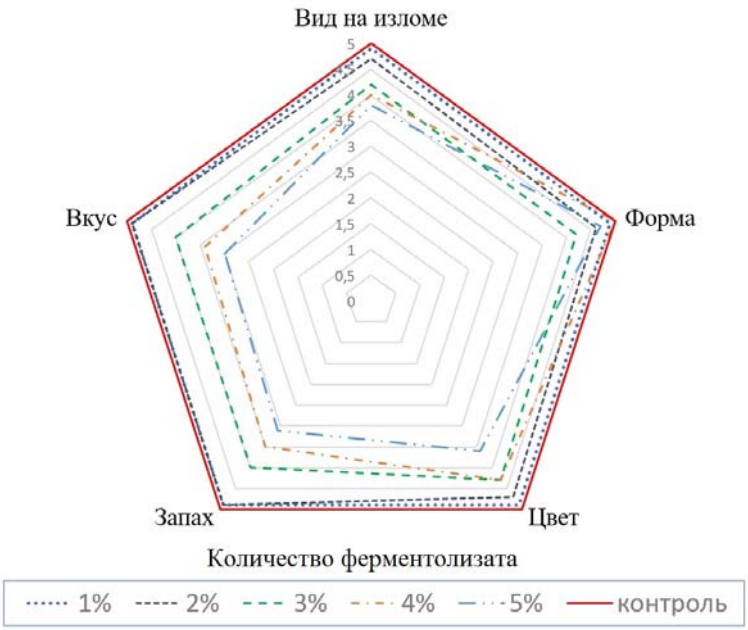

Рисунок 3.10 – Профилограмма органолептических показателей галет

Таблица 3.48 – Влияние массы вносимого ферментолизата из двустворчатых моллюсков (%) на органолептические качества галет

Ферментолизат, %	Вкус	Форма	Поверхность	Цвет
1	Пресный, свойственный пропеченному изделию без постороннего привкуса	Прямоугольная, без трещин и выпуклостей	Ровная, без вкраплений	Светло- соломенный
2	То же	То же	То же	То же
3	То же, но с легким привкусом рыбы	То же	То же	То же
4	Привкус рыбы, не свойственный изделию	То же	То же	Соломенный
5	Выраженный привкус рыбы	Прямоугольная, с выпуклостью	То же	Темно-желтый
6	Ярко выраженный вкус рыбы, не свойственный изделию	Прямоугольная, с выпуклостью	Ровная, с едва заметными вкраплениями	Грязно-желтый

Результаты физико-химических показателей галет представлены в табл. 3.49.

Таблица 3.49 – Физико-химические показатели готового продукта с разным соотношением вносимого ферментолизата

Добавка	Влажность, %	Намокаемость, %	Кислотнось, град.	Толщина, мм
Требования стандарта	Не более 11	Не менее 170	Не более 2,5	Не более 10
Контроль	11	200	3	10
Ферментолизат из двустворчатых моллюсков				
1 % к массе	7,27	115,18	2,4	10,2
2 % к массе	9,38	149,09	4,8	10,0
3 % к массе	7,28	176,46	6,8	9,5
4 % к массе	9,91	137,19	5,0	9,4
5 % к массе	10,3	119,54	6,4	9,3
6 % к массе	9,8	120,65	6,0	9,6

Примечание: $p \leq 0,05$.

Исследование физико-химических показателей качества новых видов галет свидетельствует, что при возрастании концентрации вводимой добавки физико-химические показатели продукта изменяются.

В результате исследования сделано заключение о невозможности использования добавки ферментолизата моллюска более 3 %, так как результат дает грубую структуру теста.

При разработке рецептуры были учтены органолептические показатели: при внесении 1 % ферментолизата моллюсков не ухудшается вкус галет, отсутствует рыбный привкус.

Галетное тесто представляет собой дрожжевой полуфабрикат. Входящие в состав дрожжевые клетки размножаются в течение трех часов, включая процессы брожения. При внесении разного количества ферментолизатов были произведены исследования на активность дрожжевых клеток.

При производстве готового продукта было отмечено, что введение добавок на стадии замеса теста существенно влияет на рост и размножение дрожжевых клеток. Установлен эффект дозозависимости, показанный на рис. 3.11.

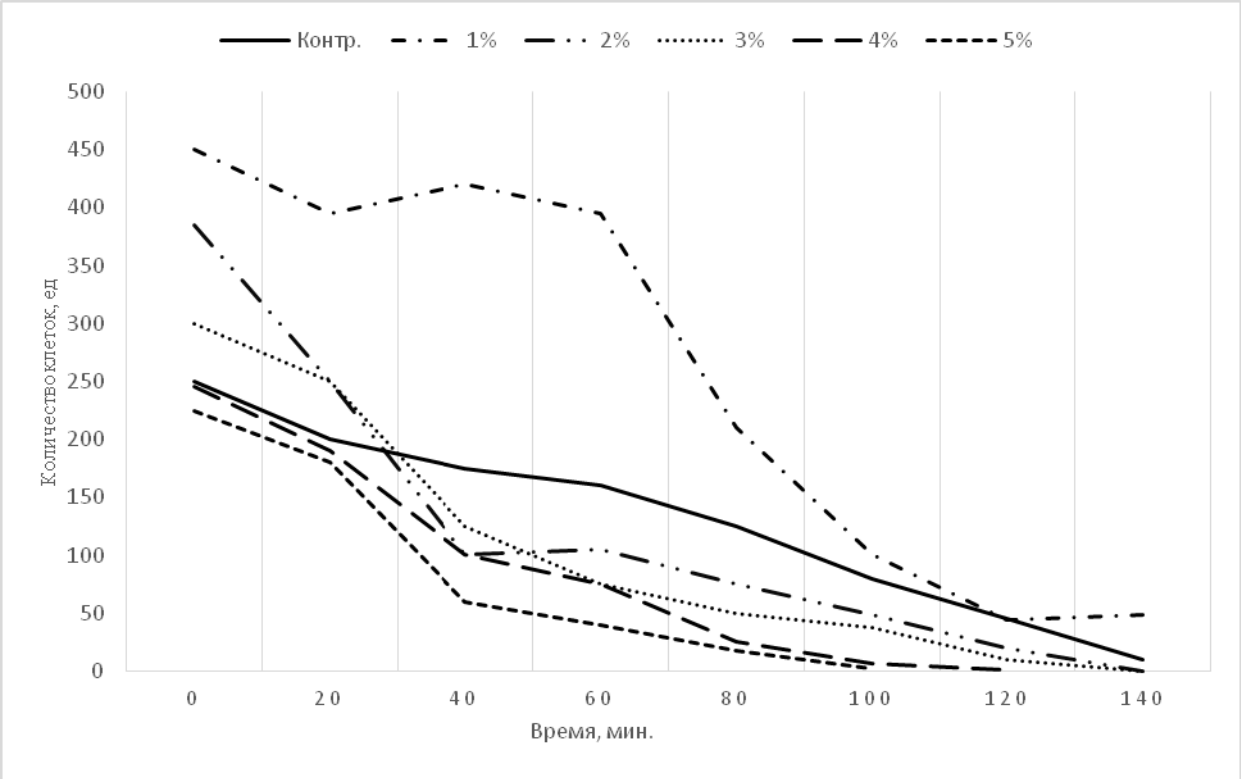

Рисунок 3.11 – Влияние количества (%) вносимого сухого ферментолизата на рост дрожжевых клеток.

Согласно полученным результатам, наибольший рост дрожжей происходил при внесении в рецептуру 1 % ферментолизата моллюска. Дальнейшее увеличение приводило к дозозависимому угнетению развития дрожжей.

Во всех образцах, включая контрольный, с течением времени происходило снижение количества дрожжевых клеток, наибольшая интенсивность снижения наблюдалась в опытных образцах с концентрацией ферментолизата выше 2 %. Наблюдение проводили на протяжении 140 мин, при этом в образцах с концентрацией ферментолизата более 3 % через 100–120 мин количество клеток сокращалось до нуля (Пивненко, 2015в).

Проведенное исследование позволяет сделать заключение о возможности внесения в рецептуру галет ферментолизатов моллюсков в доле 1 %.

Энергетическую ценность продукта рассчитывали с учетом коэффициента перерасчета. Для белков и углеводов данный коэффициент принимают равным 4,0, для жиров – 9,0.

Энергетическая ценность готового продукта с содержанием ферментолизата 1 %, представлена в табл. 3.50.

Полученные данные характеризуют продукт как диетический. Продукт может быть рекомендован для лиц, имеющих избыточную массу тела, в качестве продукта ежедневного употребления.

Таблица 3.50 – Характеристика энергетической ценности галет с ферментолизатом моллюска

Наименование показателя	Содержание, %	Ккал/100 г
Белки	9,77	39,08
Жиры	1,20	10,80
Углеводы	64,33	257,32
Итого		307,20

Для обоснования срока хранения экспериментальные образцы галет с внесением ферментолизата моллюсков в количестве 1 % упаковывали в герметическую упаковку из полимерного материала (табл. 3.51).

Таблица 3.51 – Микробиологические показатели галет в процессе хранения

Срок хранения, мес.	КМАФАнМ, КОЕ/г
1	$2,4 \cdot 10^2$
3	$3,7 \cdot 10^2$
6	$1,3 \cdot 10^3$
9	$2,5 \cdot 10^3$
12	$3,6 \cdot 10^3$
14	$5,2.10^3$
16	$8,4 \cdot 10^3$
18	$2,8 \cdot 10^4$
Норма по ТР ТС 021/2011	$5 \cdot 10^4$

Примечание: $p \leq 0,05$.

Проведенное исследование показало, что по микробиологическим показателям галеты соответствуют ТР ТС 021/2011.

3.8 Расчет экономической эффективности производства ферментолизатов моллюсков

На производственных площадях ООО «ФармОушн Лаб» (г. Партизанск) получены опытные партии ферментолизатов моллюсков. На основе анализа получения экспериментальных партий были сделаны экономические расчеты. Для определения экономической эффективности производства данного вида продукции рассчитывали показатели прибыльности: абсолютный – прибыль от реализации продукции – и относительный – рентабельность продукции. Для исчисления себестоимости продукции затраты предприятия учитывали по статьям калькуляции, включающим сырье и основные материалы, расходы воды и энергии, заработную плату и отчисления на социальные нужды, общепроизводственные расходы.

Примерная калькуляция ежемесячных затрат на производство ферментолизатов моллюсков и молочной сыворотки представлена в табл. 3.52.

Для изготовления одной партии продукта использовали 100,0 кг замороженного сырья, из которого получили 20,0 (± 0,1) кг сухой субстанции. Себестоимость продукта составила 57091,94 руб. При годовой производственной

мощности 900 кг, рентабельности 20 % стоимость продукта составит 2854,60 руб. за 1 кг.

Таблица. 3.52 – Расчет экономической эффективности производства ферментолизата моллюсков за 1 мес.

№ п.	Наименование статьи расхода	Масса	Цена за единицу, руб.	Сумма затрат, руб.	Итого, руб.
Материальные затраты					
1.	Моллюски мороженые сырец, кг	100	300	30 000	
2.	Прочие материалы	1,2	3678,08	4431,7	
					34 431,70
	Фонд оплаты труда				
3.	Технолог (1 чел.)	час	150,54	1204,29	
4.	Кладовщик (1 чел.)	час	99,21	99,21	
5.	Аппаратчик (1 чел.)	час	6020,93	7258,83	
6.	Контролер ОТК	час	107,76	107,76	
7.	Налог ФОТ (17 %) к п. 3, 4, 5,6			1473,92	
					44575,71
	Прочие расходы				
8.	Накладные расходы, в том числе амортизационные отчисления на полное восстановление (41,5 % к п. 3, 4, 5, 6)				3601,09
9.	Себестоимость				44575,71
10..	Прибыль (20 % к п. 7)				8915,14
11.	Собственная цена				57091,94
12.	Общая цена, за 1 кг (выход 20 %)				2854,60

Исходя из адекватного суточного потребления аминокислот стоимость 60 г продукта составит 171,28 руб.

Для сравнения в табл. 3.53 приведена стоимость месячного курса приема других продуктов, обогащенных животными белками и аминокислотами.

При ежедневном употреблении в течение месяца ферментолизата моллюсков с молочной сывороткой в количестве 60 г стоимость продукта ниже стоимости аналогичного курса Optimum nutrition amino (США) в 1,2 раза. Продукты компании MyProtein (Великобритания), вырабатываемые на основе молочной сыворотки,

реализуются в более низком ценовом диапазоне. Следует отметить, что стоимость продуктов на основе ферментолизатов моллюсков была выше отечественных аналогов, получаемых из растительного сырья, присутствующих на рынке спортивного питания.

Таблица 3.53 – Сравнительная стоимость месячного курса приема аналогичных продуктов, обогащенных животными белками и аминокислотами

Название препарата	Рекомендуемая суточная дозировка, табл./капс/г	Цена за 1 упаковку, руб./табл. (капс.)	Стоимость месячного курса приема, руб.
Impact Whey Protein (MyProtein, Великобритания)	21 г	1400 руб./кг	882,0
Total Breakfast (MyProtein, Великобритания)	25 г	1358 руб./кг	1018,5
Hurricane Extreme (MyProtein, Великобритания)	25 г	2000 руб./кг	1500,0
Optimum nutrition amino 2222 (Optimum Nutrition, США)	18 табл.	2429 руб./300 табл.	4365,0
Amino Complete (Россия)	12 табл.	1444 руб./360 табл.	1444,0
СуперСет". BCAA 2000 (Россия)	9 табл.	485 руб./100 табл.	1309,5

Таким образом, реализация разработанной технологии ферментолизатов моллюсков с применением вторичного молочного сырья позволит обеспечить выпуск продукции функциональной направленности по доступной цене, расширить ассортимент продуктов для людей, условия труда которых требуют повышенных физических нагрузок.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Питание является одним из главнейших факторов, влияющих на здоровье населения. Правительством Российской Федерации принята «Концепция государственной политики в области здорового питания населения Российской Федерации на период до 2005 года». Главная цель политики в области питания – здоровье населения. Цель политики питания может быть достигнута, если производство продуктов, их качество, импорт продуктов отвечают этой цели.

Стратегия повышения качества пищевой продукции в Российской Федерации до 2030 г. ориентирована на обеспечение полноценного питания, профилактику заболеваний, увеличение продолжительности и повышение качества жизни населения, стимулирование развития производства и обращения на рынке пищевой продукции надлежащего качества.

Потребление пищевой продукции с низкими потребительскими свойствами является причиной снижения качества жизни и развития ряда заболеваний населения, в том числе за счет необоснованно высокой калорийности пищевой продукции, сниженной пищевой ценности, избыточного потребления насыщенных жиров, дефицита микронутриентов и пищевых волокон.

Проблемой обеспечения качества пищевой продукции также является практически полное отсутствие в Российской Федерации производства пищевых ингредиентов и субстанций (витаминов, аминокислот, пищевых добавок, ферментных препаратов, биологически активных веществ, заквасочных и пробиотических микроорганизмов, пребиотических веществ и др.). Одним из основных показателей качества является энергетическая и пищевая ценность продукции, характеризующая наличие и количественное содержание в продукции пищевых и минорных биологически активных веществ, определяющих ее биологическую и физиологическую ценность, калорийность и усвояемость.

Целями стратегии являются обеспечение качества пищевой продукции как важнейшей составляющей укрепления здоровья, увеличения продолжительности и повышения качества жизни населения, содействие и стимулирование роста

спроса и предложения на более качественные пищевые продукты и обеспечение соблюдения прав потребителей на приобретение качественной продукции.

Морские организмы известны как источник биологически активных соединений, среди которых особый интерес представляют белки, пептиды, аминокислоты. Современные методы исследования позволили более детально изучить уже известные и открыть новые аспекты биологической активности пептидов и аминокислот в организме человека.

Помимо пластической функции, биологически активные компоненты тканей моллюсков принимают участие в ряде важных метаболетических процессов, в том числе в антирадикальной защите организма человека.

Бóльшая часть двустворчатых моллюсков, добываемых на Дальнем Востоке России, реализуется в свежем виде или перерабатывается на охлаждённую и мороженую продукцию.

Сложность разработки технологий продукции длительного хранения из моллюсков определяется повышенным содержанием коллагена – до 7,5 % от массы мягких тканей. Высокое содержание в мягких тканях соединительно-тканных белков, фракции белков стромы и коллагена обусловливает жесткую, резиноподобную консистенцию мяса моллюсков.

Исследование состава сырьевых источников показало невысокие значения содержания растворимых белков и свободных аминокислот. Видовые различия содержания свободных аминокислот и фракционный состав белков изученных моллюсков определили специфику технологии их переработки. Одним из способов улучшения реологических характеристик мяса моллюсков является размягчение под действием протеолитических ферментов. Ферментативный гидролиз пищевых белков является эффективным способом получения биоактивных пептидов, так как пептиды, полученные в результате этого процесса, имеют разную активность, что позволяет проводить направленный процесс получения продукта с заданными свойствами. Степень биоконверсии сырья определяется специфической активностью протеолитических ферментных препаратов и оценивается по накоплению в конечном продукте свободных аминокислот и пептидов. Использо-

вание разрешенных к применению в пищевой промышленности ферментных препаратов («Протамекс» и «Мегатерин») позволило определить рациональные параметры их действия и получить продукты, различающиеся по составу. Отмечено более значительное накопление пептидов и свободных аминокислот в ферментолизатах моллюсков, полученных с использованием мегатерина. Результатом процесса явилось соответствие состава аминокислот только ферментолизата мерценарии, полученного с использованием мегатерина, идеальному белку.

Перспективным направлением в разработке рецептур пищевых продуктов является проектирование и производство продуктов поликомпонентного состава, обеспечивающих поступление в организм комплекса необходимых микро- и макронутриентов.

В настоящее время в пищевой промышленности широко используются различные функциональные композиционные смеси на основе молочного сырья с целью улучшения реологических характеристик и повышения пищевой ценности продукции. Кроме того, обогащение продуктов молочной сывороткой улучшает вкус, запах, консистенцию, товарный вид продукта и способствует повышению его усвояемости и хранимоспособности.

Исследованные способы использования молочной сыворотки в биоконверсии двустворчатых моллюсков позволили выявить закономерности изменения состава обогащенных продуктов. Обогащение молочной сывороткой ферментолизатов моллюсков практически на треть увеличивало содержание в продуктах пептидов и свободных аминокислот. Полученные по данной технологии продукты по составу аминокислот соответствовали шкале ФАО/ВОЗ, за исключением обогащенных ферментолизатов из мягких тканей корбикулы. Скор аминокислот обогащенных продуктов из данного моллюска составлял 28–91 % от «идеального» белка.

Определение состава ферментолизатов мягких тканей моллюсков в среде молочной сыворотки позволило выявить специфичность действия ферментов в многокомпонентной среде. Сравнение с ферментолизатами, полученными в водной среде, свидетельствует о более высоком накоплении пептидов в ферментоли-

зате спизулы в случае использования протамекса, а при использовании мегатерина – в ферментолизате корбикулы. Возрастание скора аминокислот наиболее эффективно проходило под действием протамекса.

Продукты, полученные способом совместного ферментолиза мягких тканей моллюсков (мерценария и спизула) и молочной сыворотки, по содержанию свободных аминокислот превосходили «идеальный» белок. Однако ферментолиз корбикулы в молочной сыворотке хоть и способствовал увеличению суммы незаменимых аминокислот в продукте, однако их содержание составляло от 37,7 до 90,8 % от содержания в «идеальном» белке.

Обобщая данные по исследованию процессов ферментолиза гомогенатов мягких тканей моллюсков под действием двух ферментных препаратов, следует признать наиболее эффективным использование протамекса. Использование этого препарата позволило получить продукты с выходом 24,7 % от массы исходного сырья.

Биологическая активность полученных продуктов, исследованная с использованием культуры *Tetrahymena pyriformis*, свидетельствуют, что ферментолизаты моллюсков с молочной сывороткой (совместный ферментолиз), независимо от типа используемого фермента, повышают ОБЦ продуктов. При этом наибольшей величиной ОБЦ характеризовался продукт, полученный способом совместного ферментолиза мягких тканей корбикулы в среде молочной сыворотки.

Свободные аминокислоты проявляют слабую антирадикальную активность, но комплексы аминокислот и пептидов способны дополнять и усиливать друг друга, составляя комплекс антиокислителей. Результаты проведенного исследования свидетельствуют, что обогащение ферментолизатов моллюсков увеличивает антирадикальную емкость продуктов. А наибольшей антирадикальной активностью характеризуются продукты ферментолиза мерценарии, обогащенные молочной сывороткой. Проведение ферментолиза мягких тканей моллюсков в среде молочной сыворотки приводило к снижению антирадикальных свойств продуктов. По-видимому, антирадикальные свойства продуктов зависят не только от количе-

ственного содержания свободных аминокислот и пептидов, но от их качественного состава.

Проведенные исследования явились основанием для разработки нормативных документов на технологию получения сухих ферментолизатов моллюсков с использованием молочной сыворотки. Разработанная технология апробирована в промышленном масштабе, показана экономическая эффективность ее внедрения.

Сублимированные ферментолизаты моллюсков, как биологически активный компонент, использовались для разработки рецептур функциональных продуктов, в том числе галет и сухих первых блюд.

Разработанные технологии продукции функционального питания с использованием мягких тканей двустворчатых моллюсков и молочной сыворотки позволяют изготавливать широкий ассортимент продукции функциональной направленности, отличающейся органолептической привлекательностью, высокой биологической ценностью и безопасностью. Данные продукты в виде порошков могут быть предназначены для самостоятельного приема либо для введения в качестве обогащающих добавок в разные продукты. Технологии эффективны для внедрения на рыбоперерабатывающих и биотехнологических предприятиях.

Результаты исследования позволяют сделать следующие выводы:

1. Научно обоснованы биотехнология ферментолизатов, обогащенных низкомолекулярными белками, аминокислотами и пептидами, из недоиспользуемых промысловых двустворчатых моллюсков и технологические приемы их использования в составе продуктов функциональной направленности.

2. Технохимический состав и фракционное распределение белков мягких тканей клем (корбикулы, спизулы, мерценарии) определяют целесообразность применения ферментативной протеолитической биоконверсии исходного сырья.

3. Научно обоснован способ получения белковых продуктов из мягких тканей двустворчатых моллюсков и его технологическое решение путем обогащения молочной сывороткой, основанное на ферментативном гидролизе двухкомпонентного сырья (гомогенат тканей моллюска и молочная сыворотка в соотноше-

нии 1,0 : 0,5–1,0) с использованием протеолитических ферментных препаратов – «Протамекс» (0,5–2,0 Е/г сырья) и «Мегатерин» (0,5–1,0 Е/г сырья).

4. Нутрификация ферментолизатов моллюсков молочной сывороткой обеспечивает увеличение содержания свободных аминокислот на 3,1–97,7 % при использовании протамекса и на 6,3–33,1 % при использовании мегатерина. Совместный ферментолиз тканей моллюсков и молочной сыворотки повышает содержание свободных аминокислот соответственно на 36,7–145,2 и 37,9–88,1 %, пептидов – на 38,8–92,0 %, что обусловлено составом сырья и специфичностью действия ферментов.

5. Биологическая ценность полученных продуктов зависит от способа внесения молочной сыворотки: антирадикальная активность увеличивается на 5–6 % для ферментолизатов моллюсков, обогащенных негидролизованной молочной сывороткой. Общая биологическая ценность, определенная по влиянию на рост и развитие тест-культуры *Tetrahymena pyriformis*, возрастает в продуктах, подвергнутых совместному ферментолизу, на 8,5–22,4 %.

6. Определены рациональные условия и разработана технологическая схема биоконверсии двустворчатых моллюсков, предусматривающая варианты использования вторичного молочного сырья. Исследование безопасности, химического состава и биологической ценности ферментолизатов обосновывает их применение в технологии пищевых продуктов функциональной направленности: бульонов, сухих первых блюд с регулируемой консистенцией, мучных кондитерских изделий.

7. Экспериментально обоснована технология сухих первых блюд с заданной консистенцией, обеспеченной введением в ферментолизат моллюсков альгината натрия и глюконо-дельта-лактона в соотношении 65,0 : 3,5 : 1,0 по сухой массе, что обеспечивает высокие органолептические свойства блюд. Обосновано применение сублимированного ферментолизата моллюсков в технологии галет в количестве 1 % от массы тестовой заготовки, что обеспечивает увеличение скорости роста дрожжевых клеток в 3 раза.

8. Оценка качества и безопасности готовых изделий подтвердила высокую пищевую и биологическую ценность продуктов функциональной направленности. Обоснованы сроки хранения продукции: 12 мес. для ферментолизатов и 18 мес. для сухих первых блюд и галет. Разработаны комплекты нормативной документации: СТО 00471515-057-2017 «Гидролизат из двустворчатых моллюсков»; СТО 00471515-058-2017 «Сухие первые блюда «Морской обед», СТО 00471515-059-2017 «Галеты «Арктика М». Приоритетность разработанного технологического решения подтверждена патентом РФ № 2580157 «Способ получения пищевого продукта, обладающего биологически активными свойствами из гидробионтов». Установлена экономическая эффективность от внедрения технологии ферментолизатов, соответствующая рентабельности выпуска не менее 20 %.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Алимов, А.Ф. Закономерности роста пресноводных и двустворчатых моллюсков / А.Ф. Алимов // Журн. общ. биол. – 1974. – Т. 35(4). – С. 576. –589.

2. Алимов, А.Ф. Интенсивность обмена у пресноводных двустворчатых моллюсков / А.Ф. Алимов // Экология. – 1975. – Т. 1. – С. 10. –20.

3. Антипова, Л.В. Биокаталитические свойства препарата мегатерин Г20х при обработке белков мяса / Л.В. Антипова, О.А. Решетник, В.Я. Пономарев // Изв. вузов. Пищевая технология. – 2001. – № 2–3. – С. 17–19.

4.Атлас двустворчатых моллюсков дальневосточных морей России / сост. С.В. Явнов ; науч. ред. С.Е. Поздняков. – Владивосток : ИД «Дюма», 2000. – 168 с.

5. Аюшин, Н.Б. Таурин: фармацевтические свойства и перспективы получения из морских организмов / Н.Б. Аюшин // Изв. ТИНРО. – 2001. – Т. 129. – С. 129–145.

6. Барановский, А.Ю. Диетология : моногр. / под ред. А.Ю. Барановского. – 4-е изд. – СПб., 2013. – 1024 с.

7. Беседнова, Н.Н. Головоногие моллюски: биопотенциал и перспективы использования в медицине / Н.Н. Беседнова, Т.С. Запорожец, Н.Н. Ковалев и др. // Биол. моря. – 2017. – Т. 43, № 2. – С. 87–96.

8. Битютская, О. Использование моллюска в технологии диетических продуктов / О. Битютская, В. Любчик, Т. Овсянникова // Товари і ринки. – 2012. – № 2. – С. 111–119.

9. Борисова, Г.В. Выбор ферментных препаратов с целью получения гидролизатов молочной сыворотки с низкой аллергенностью / Г.В. Борисова, М.В. Новосёлова, О.Н. Бондарчук, Ю.С. Малова // Фундаментальные исследования. Сельскохозяйственные науки. – 2012. – № 11. – С. 1164–1167.

10. Гаврилин, М.В. Выбор оптимальных условий получения гидролизатов молочнокислых бактерий термокислотным способом / М.В. Гаврилин, Г.В. Сенчукова, С.П. Сенченко и др. // Химико-фармацевтический журнал. – 2007. – Т. 41, № 2. – С. 54–56.

11. ГОСТ 21-94 Сахар-песок. Технические условия. – М. : Стандартинформ, 2012. – 19 с.

12. ГОСТ 10114-80 Изделия кондитерские мучные. Метод определения намокаемости (с Изменениями № 1, 2). – М. : Стандартинформ, 2012. – 20 с.

13. ГОСТ 14032-68 Галеты. Технические условия. – М. : Стандартинформ, 2009. – 20 с.

14. ГОСТ 10444.1-84 Консервы. Приготовление растворов реактивов, красок, индикаторов и питательных сред, применяемых в микробиологическом анализе. – М. : Стандартинформ, 2010. – 20 с.

15. ГОСТ 10444.2-94 Продукты пищевые. Методы выявления и определения количества Staphylococcus aureus. – М. : Стандартинформ, 2008. – 20 с.

16. ГОСТ 10444.8-88 Продукты пищевые. Метод определения Bacillus cereus. – М. : Стандартинформ, 2010. – 39 с.

17. ГОСТ 10444.9-88 Продукты пищевые. Метод определения Clostridium perfringens. – М. : Стандартинформ, 2010. – 33 с.

18. ГОСТ 10444.12-88 Продукты пищевые. Метод определения дрожжей и плесневых грибов. – М. : Стандартинформ, 2010. – 20 с.

19. ГОСТ 10444.15-94 Продукты пищевые. Методы определения количества мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов. – М. : Стандартинформ, 2010. – 8 с.

20. ГОСТ 23600-79 Концентраты пищевые. Супы сухие с рыбой и морепродуктами. Технические условия. – М. : Стандартинформ, 2009. – 20 с.

21. ГОСТ 26668-85 Продукты пищевые и вкусовые. Методы отбора проб для микробиологических анализов. – М. : Стандартинформ, 2010. – 20 с.

22. ГОСТ 26670-91 Продукты пищевые. Методы культивирования микроорганизмов. – М. : Стандартинформ, 2008. – 20 с.

23. ГОСТ 26929-94 Сырье и продукты пищевые. Подготовка проб. Минерализация для определения содержания токсичных элементов. – М. : ИПК Изд-во стандартов, 2002. – 29 с.

24. ГОСТ 27839-88 Мука пшеничная. Метод определения количества и качества клейковины. – М. : Стандартинформ, 2007. – 20 с.

25. ГОСТ 28805-90 Продукты пищевые. Методы выявления и определения количества осмотолерантных дрожжей и плесневых грибов. – М. : Стандартинформ, 2010. – 20 с.

26. ГОСТ 29185-91 Продукты пищевые. Методы выявления и определения количества сульфитредуцирующих клостридий. – М. : Стандартинформ, 2010. – 5 с.

27. ГОСТ 30178-96 Сырье и продукты пищевые. Атомно-абсорбционный метод определения токсичных элементов. – М. : Стандартинформ, 2010. – 10 с.

28. ГОСТ 30519-97 Продукты пищевые. Метод выявления бактерий рода Salmonella. – М. : Стандартинформ, 2010. – 20 с.

29. ГОСТ 31659-2012 Продукты пищевые. Метод выявления бактерий рода Salmonella. – М. : Стандартинформ, 2014. – 24 с.

30. ГОСТ 31746-2012 Продукты пищевые. Методы выявления и определения количества коагулазоположительных стафилококков и Staphylococcus aureus. – М. : Стандартинформ, 2013. – 22 с.

31. ГОСТ 31747-2012 Продукты пищевые. Методы выявления и определения количества бактерий группы кишечных палочек (колиформных бактерий). – М. : Стандартинформ, 2013. – 20 с.

32. ГОСТ 32031-2012 Продукты пищевые. Методы выявления бактерий Listeria monocytogenes. – М. : Стандартинформ, 2014. – 28 с.

33. ГОСТ 32261-2013 Масло сливочное. Технические условия. – М. : Стандартинформ, 2015. – 21 с.

34. ГОСТ 32802-2014 Добавки пищевые. Натрия карбонаты Е500. Общие технические условия. – М. : Стандартинформ, 2016. – 32 с.

35. ГОСТ 3624-92 Молоко и молочные продукты. Титриметрические методы определения кислотности. – М. : Стандартинформ, 2009. – 20 с.

36. ГОСТ 5670-96 Хлебобулочные изделия. Методы определения кислотности. – М. : Стандартинформ, 2006. – 8 с.

37. ГОСТ 5897-90 Изделия кондитерские. Методы определения органолептических показателей качества, размеров, массы нетто и составных частей. – М. : Стандартинформ, 2012. – 20 с.

38. ГОСТ 5900-73 Изделия кондитерские. Методы определения влаги и сухих веществ. – М. : Стандартинформ, 2012. – 8 с.

39. ГОСТ 7631-85 Рыба, морские млекопитающие, морские беспозвоночные и продукты их переработки. Правила приемки, органолептические методы оценки качества, методы отбора проб для лабораторных испытаний. – М. : Стандартинформ, 2010. – 20 с.

40. ГОСТ 9142-2014 Ящики из гофрированного картона. Общие технические условия. – М. : Стандартинформ, 2016. – 33 с.

41. ГОСТ Р 51574-2000 Соль поваренная пищевая. Технические условия. – М. : Стандартинформ, 2005. – 37 с.

42. ГОСТ Р 52841-2007 Продукция винодельческая. Определение органических кислот методом капиллярного электрофореза. – М. : Стандартинформ, 2008. – 10 с.

43. ГОСТ Р 53438-2009 Сыворотка молочная. Технические условия. – М. : Стандартинформ, 2010. – 13 с.

44. ГОСТ Р 54731-2011 Дрожжи хлебопекарные прессованные. Технические условия. – М. : Стандартинформ, 2012. – 20 с.

45. Гришин, А.С. Технология нового вида консервов «Спизула натуральная» / А.С. Гришин // Рыб. пром-сть. – 2004а. – № 1. – С. 20–21.

46. Гришин, А.С. Фракционный состав белков мышечной ткани анадары и его изменения при термообработке / А.С. Гришин, Т.А. Давлетшина, С.В. Леваньков, Л.В. Шульгина // Изв. ТИНРО. – 2004б. – Т. 138. – С. 368–369.

47. Гунькова, П.И. Биотехнологические свойства белков молока : моногр. / П.И. Гунькова, К.К. Горбатова. — СПб. : ГИОРД, 2015. — 214 с.

48. Давидович, В.В. Аминокислоты двустворчатых моллюсков: биологическая роль и применение в качестве БАД / В.В. Давидович, Т.Н. Пивненко // Изв. ТИНРО. – 2001. – Т. 129. – С. 146–154.

49. Давлетшина, Т.А. Многокомпонентные консервы из клем / Т.А. Давлетшина, А.С. Гришин, Л.В. Шульгина // Рыбпром. – 2007. – № 1. – С. 16–18.

50. Давидович, В.В. Содержание свободных аминокислот и гистидинсодержащих дипептидов в моллюсках – перспективных источниках получения БАД / В.В. Давидович, Т.Н. Пивненко, Н.Б. Аюшин, А.Л. Шутикова // Изв. ТИНРО. – 2006. – Т. 147. – С. 331–337.

51. Евсеев, Г.А. Двустворчатые моллюски дальневосточных морей : моногр. / Г.А. Евсеев, Ю.М. Яковлев. – Владивосток : ИБМ ДВО РАН, 2006. – 120 с.

52. Есипенко, Р.В. Антиоксидантная активность ферментолизатов некоторых видов двустворчатых моллюсков / Р.В. Есипенко, Н.В. Довженко, Н.Н. Ковалев // Научные труды Дальрыбвтуза. – Владивосток, 2017. – Т. 44. – С. 68–74.

53. Есипенко, Р.В. Обоснование биотехнологии корбикулы японской с использованием молочной сыворотки / Р.В. Есипенко, Н.Н. Ковалев // Международная научно-техническая конференция «Инновации и современные технологии пищевых производств». – Владивосток : Дальрыбвтуз, 2013. – С. 207–209.

54. Есипенко, Р.В. Характеристика белкового состава разноразмерных групп мерценарии / Р.В. Есипенко, Э. Омер-Оглы // Международная научно-техническая конференция студентов, аспирантов и молодых ученых, посвященная 85-летию ФГБОУ ВПО «Дальрыбвтуз». – Владивосток : Дальрыбвтуз, 2015а. – С. 40–42.

55. Есипенко, Р.В. Обоснование биотехнологии мерценарии Симпсона / Р.В. Есипенко, Н.Н. Ковалев, Д.В. Порваткин // Научные труды Дальрыбвтуза. – 2015б. – Т. 35. – С. 131–138.

56. Есипенко, Р.В. Ферментолизаты спизулы сахалинской: состав и биологическая активность / Р.В. Есипенко, Н.Н. Ковалев // Актуальные проблемы освоения биологических ресурсов Мирового океана : материалы IV Международной научно-технической конференции. – Владивосток : Дальрыбвтуз, 2016. – С. 18–22.

57. Есипенко, Р.В. Состав и свойства ферментолизатов корбикулы японской с использованием молочной сыворотки / Р.В. Есипенко, Н.Н. Ковалев, Т.Г. Сахарова // Международная научно-техническая конференции студентов, аспи-

рантов и молодых ученых «Комплексные исследования в рыбохозяйственной отрасли». – Владивосток : Дальрыбвтуз, 2014. – С. 161–164.

58. Жукова, Н.В. Жирные кислоты морских организмов: таксономические и трофические маркеры: автореф. дис… д-ра биол. наук / Н.В. Жукова. – Владивосток : Тихоокеан. ин-т биоорган. химии ДВО РАН, 2009. – 49 с.

59. Жукова, Н.В. Неметиленразделенные жирные кислоты морских двустворчатых моллюсков: распределение по тканям и классам липидов / Н.В. Жукова // Журн. эволюц. биохим. и физиол. – 1992. – Т. 28. – С. 434–440.

60. Замараева, Т.В. Метод определения содержания коллагеновых белков по оксипролину / Т.В. Замараева // Современные методы в биохимии. – М. : Медицина, 1997. – С. 262–264.

61. Затравкин, М.Н. Крупные двустворчатые моллюски пресных и солоноватых вод Дальнего Востока СССР: моногр. / М.Н. Затравкин, В.В. Богатов. – Владивосток : ДВО АН СССР, 1987. – 153 с.

62. Зюзьгина, А.А. Технохимическая характеристика двустворчатого моллюска анадара Anadara broughtoni / А.А. Зюзьгина, Н.М. Купина // XXI век – перспективы развития рыбохозяйственной науки: материалы Всерос. Интернет-конф. молодых учёных. – Владивосток : ТИНРО-Центр, 2002. – С. 147–150.

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

64. Игнатьев, А.Д. Использование инфузории техтрахимены пириформис как тест-объекта при биологических исследованиях в сельском хозяйстве / А.Д. Игнатьев, В.Я. Шаблий. – М. : ВНИИТЭИСХ, 1978. – 51 с.

65. Игнатьев, А.Д. Модификация метода биологической оценки пищевых продуктов с помощью реснитчатой инфузории тетрахимена пириформис / А.Д. Игнатьев, М.К. Исаев, В.А. Долгов и др. // Вопр. питания. – 1980. – № 1. – С. 70–71.

66. Инструкция по санитарно-микробиологическому контролю производства пищевой продукции из рыбы и морских беспозвоночных. – М., 1991.

67. Караващенко, В.Ф. Использование отходов культивируемых моллюсков в кормлении кур-несушек в Приморском крае / В.Ф. Караващенко, В.В. Савонова // Марикультура на Дальнем Востоке : сб. науч. тр. – Владивосток : ТИНРО, 1986. – С. 130–134.

68. Касьянов, Г.И. Технология переработки рыбы и морепродуктов : учеб. пособие / Г.И. Касьянов, Е.Е. Иванова, А.Б. Одинцова и др. – Ростов н/Д. : Издательский центр «Март», 2001. – 416 с.

69. Кафанов, А.И. Двустворчатые моллюски шельфов и континентального склона северной Пацифики : аннотированный указатель / А.И. Кафанов. – Владивосток : ДВО АН СССР, 1991. – 200 с.

70. Кашин, А.Г. Влияние солености среды обитания на состав липидов некоторых водных беспозвоночных: автореф. дис. … канд. биол. наук / А.Г. Кашин. – Самара, 1997. – 17 с.

71. Кизеветтер, И.В. Биохимия сырья водного происхождения: моногр. / И.В. Кизеветтер. – М. : Пищ. пром-сть, 1973. – 416 с.

72. Кизеветтер, И.В. Лов и обработка промысловых беспозвоночных Дальневосточных морей: моногр. / И.В. Кизеветтер. – Владивосток: Прим. кн. изд-во, 1962. – 224 с.

73. Киселев, В.В. Технохимическая характеристика некоторых видов двустворчатых моллюсков / В.В. Киселев, Н.М. Купина // Тез. докл. Всерос. конф. молодых ученых. – Мурманск, 2002. – С. 94–96.

74. Киселев, В.В. Технохимическая характеристика спизулы сахалинской залива Петра Великого // Изв. ТИНРО. – 2005. – Т. 140. – С. 322–328.

75. Кисиль, Н.Н. Аминокислотные смеси из белков творожной сыворотки / Н.Н. Кисиль, Э.М. Тер-Саркисян // Молочная промышленность. – 2006. – № 12. – С. 48–49.

76. Климова, Е.Ю. Сравнительный анализ технохимических характеристик культивированного и природного гребешка приморского живого / Е.Ю. Климова, Е.П. Лаптева // Науч. тр. Дальрыбвтуза. – 2010. – Т. 22. – С. 78–81.

77. Ковалев, А.Н. К вопросу о фракционном составе белков спизулы сахалинской / А.Н. Ковалев, Р.В. Есипенко, Н.Н. Ковалев // Научные труды Дальрыбвтуза. – 2015. – Т. 34. – С. 122–126.

78. Ковалев, Н.Н. Исследование размерно-массовых характеристик и химического состава мерценарии Стимпсона / Н.Н. Ковалев, Р.В. Есипенко, Э. Омер-Оглы // Материалы 2-й Междун. науч.-техн. конф. студентов, аспирантов и молодых ученых «Комплексные исследования в рыбохозяйственной отрасли», посвященной 85-летию ФГБОУ ВПО «Дальрыбвтуз». – Владивосток, 2015. – Т. 2. – С. 277–280.

79. Ковалев, Н.Н. Исследование химического состава, пищевой ценности и безопасности мерценарии Стимпсона / Н.Н. Ковалев, Н.М. Купина, Р.В. Есипенко // Рыб. хоз-во. – 2013а. – № 4. – С. 132–136.

80. Ковалев, Н.Н. Микроэлементный состав корбикулы японской из разных районов обитания / Н.Н. Ковалев, Р.В. Есипенко // Междун. науч.-практ. конф. «Проблемы бизнеса и технологий в Дальневосточном регионе». – Находка, 2013б. – С. 125–131.

81. Ковалев, Н.Н. Технохимическая характеристика и обоснование биотехнологии спизулы сахалинской / Н.Н. Ковалев, Р.В. Есипенко, А.Н. Ковалев // Хранение и переработка сельхозсырья. – 2016а. – № 5. – С. 33–36.

82. Ковалев, Н.Н. Влияние условий среды обитания на активность холинэстеразы гемолимфы корбикулы (*Corbicula japonica*) / Н.Н. Ковалев, Е.В. Михеев, Р.В. Есипенко // Естественные и технические науки. – 2016б. – № 6 (96). – С. 31–36.

83. Колпаков, Е.В. Распределение и рост двустворчатого моллюска *Mercenaria stimpsoni* в бухте Инокова (северное Приморье) / Е.В. Колпаков, Н.В. Колпаков // Изв. ТИНРО. – 2004. – Т. 136. – С. 197–204.

84. Круглик, В.И. Исследование кинетики ферментативного гидролиза нативных молочных белков / В.И. Круглик // Сыроделие и маслоделие. – 2007. – № 5. – С. 35–36.

85. Крылова, Н.Н. Физико-химические методы исследования продуктов животного происхождения : моногр. / Н.Н. Крылова, Ю.Н. Лясковская. – М. : Пищ. пром-сть, 1965. – 313 с.

86. Купина, Н.М. Исследование физико-химических и технологических свойств мерценарии Стимпсона *Mercenaria stimpsoni* в процессе хранения / Н.М. Купина // Изв. ТИНРО. – 2015. – Т. 181. – С. 252–261.

87. Купина, Н.М. Применение современных биохимических методов в технологии пищевых продуктов из моллюсков / Н.М. Купина, А.А. Зюзьгина, Н.А. Герасимова и др. // Рациональное природопользование и управление морскими биоресурсами: экосистемный подход : тез. докл. Междун. конф. – Владивосток : ТИНРО-Центр, 2003. – С. 245–246.

88. Купина, Н.М. Характеристика корбикулы японской как сырья для производства пищевых продуктов / Н.М. Купина, Р.В. Есипенко, Н.Н. Ковалев // Актуальные проблемы освоения биологических ресурсов Мирового океана : материалы II Международной научно-технической конференции. – Владивосток : Дальрыбвтуз, 2012. – С. 63–67.

89. Курбанова, М.Г. Направленный гидролиз белков молока / М.Г. Курбанова, О.О. Бабич, А.Ю. Просеков // Молочная промышленность. – 2010а. – № 9. – С. 70–72.

90. Курбанова, М.Г. Белковые гидролизаты с биологически активными пептидами / М.Г. Курбанова, И.С. Разумникова, А.Ю. Просеков // Молочная промышленность. – 2010б. – № 10. – С. 73–76.

91. Лаженцева, Л.Ю. Технология белковых продуктов из дальневосточных моллюсков / Л.Ю. Лаженцева, Е.В. Лихачева // Изв. вузов. Пищевая технология. – 2008. – № 5–6. – С. 63–65.

92. Лазаревский, А.А. Технохимический контроль в рыбообрабатывающей промышленности : моногр. / А.А. Лазаревский. — М. : Пищ. пром-сть, 1955. – 518 с.

93. Майоров, А.А. Исследование возможности использования глюконо-дельта-лактона в технологии мягкого сыра из восстановленного цельного молока /

А.А. Майоров, И.М. Мироненко, А.И. Яшкин // Техника и технология пищевых производств. – 2012. – Т. 4, № 27. – С. 27–31.

94. Максимюк, Н.Н. О преимуществах ферментативного способа получения белковых гидролизатов / Н.Н. Максимюк, Ю.В. Марьяновская // Фундаментальные исследования. – 2009. – № 1. – С. 34–35.

95. Мартынов, А.В. Проблемы дефицита белка в рационе питания россиян и пути их решения / А.В. Мартынов // Молочная промышленность. – 2000. – № 7. – С. 11–15.

96. Мингалеева, З.Ш. Технологический контроль хлебопекарного производства : учеб. пособие / З.Ш. Мингалеева О.А. Решетник, Г.О. Ежкова, П.П. Черепнин. – Казань : КГТУ, 2000. – 51 с.

97. МУК 4.2.1847-04 Санитарно-эпидемиологическая оценка обоснования сроков годности и условий хранения пищевых продуктов.

98. Мухин, В.А. Ферментный препарат из гепатопанкреаса краба в качестве стимулятора созревания гидробионтов при посоле / В.А. Мухин, В.Ю. Новиков, Л.Л. Константинова и др. // Хранение и переработка сельхозсырья. – 2002. – № 8. – С. 41–44.

99. Нечаев, А.П. Пищевая химия : учебник для студентов вузов / А.П. Нечаев, С.Е. Траубенберг, А.А. Кочеткова и др. – СПб. : ГИОРД, 2003. – 640 с.

100. Нилов, Д.Ю. Современное состояние и тенденции развития рынка функциональных продуктов питания и пищевых добавок / Д.Ю. Нилов, Т.Э. Некрасова // Пищевые ингредиенты. Сырье и добавки. – 2005. – № 2. – С. 28–29.

101. Омаров, М.Н. Адаптация рефрактометрического метода определения сухих веществ по шкале Брикс для контроля процессов переработки молочной сыворотки / М.Н. Омаров, В.Г. Блиадзе, Д.Н. Коваленко, З.В. Волокитина // Техника и технология пищевых производств. – 2013. – № 4. – С. 64–68.

102. Остроумов, Л.А. О составе и свойствах молочной сыворотки / Л.А. Остроумов, Г.Б. Гаврилов // Хранение и переработка сельхозсырья. – 2006. – № 8. – С. 47–48.

103. Пат. РФ 2219805 Пищевой профилактический продукт корбикулин (варианты) и способ его получения (варианты) / Н.М. Купина, В.Н. Акулин, А.В. Кропотов и др. – № 2001124543/13; заяв. 09.04.2001; опубл. 27.12.2003.

104. Пат. РФ. 2580157 Способ получения пищевого продукта, обладающего биологически активными свойствами из гидробионтов / Н.Н. Ковалев, Р.В. Есипенко, Ю.М. Позднякова. – № 2014154428/13; заяв. 30.12.2014; опубл. 10.04.16. Бюл. № 10.

105. Пивненко, Т.Н. Получение и характеристика белковых гидролизатов с использованием ферментных препаратов различной специфичности / Т.Н. Пивненко, Ю.М. Позднякова, В.В. Давидович // Изв. ТИНРО. – 1997. – Т. 120. – С. 23–31.

106. Пивненко, Т.Н. Технология белковых гидролизатов и продуктов на их основе : учеб. пособие / Т.Н. Пивненко. – Владивосток : Дальрыбвтуз, 2010. – 224 с.

107. Пивненко, Т.Н. Ферментативные гидролизаты из гидробионтов Тихого океана как основа для создания биологически активных добавок к пище и продуктов функционального питания : моногр. / Т.Н. Пивненко, Н.Н. Ковалёв, Т.С. Запорожец и др. – Владивосток : Дальнаука, 2015а. – 160 с.

108. Пивненко, Т.Н. Сериновые протеиназы морских организмов: свойства, получение, применение : моногр. / Т.Н. Пивненко, Н.Н. Ковалев. – Владивосток : Дальрыбвтуз, 2015б. – 498 с.

109. Пивненко, Т.Н. Влияние белковых и нуклеотидных гидролизатов из морского сырья на рост и развитие микроорганизмов, используемых в пищевых производствах / Т.Н. Пивненко, М.В. Рогатовских, Р.В. Есипенко // Известия вузов. Сер. Пищевая технология. – 2015в. – № 5–6. – С. 10–14.

110. Попов, А.М. Противоопухолевая и антикоагулянтная активность коллагенового белка из голотурии *Apostichopus japonicus*, модифицированного протеолитическими ферментами / А.М. Попов, А.А. Артюков, В.П. Глазунов и др. // Биол. моря. – 2011. – Т. 37, № 3. – С. 217–222.

111. Просеков, А.Ю. Получение ферментативных гидролизатов белков молочной сыворотки с использованием протеолитических ферментов / А.Ю. Просе-

ков, Е.В. Ульрих, С.Ю. Носкова и др. // Фундаментальные исследования. – 2013. – № 6. – С. 1089–1093.

112. Рекомендуемые уровни потребления пищевых и биологически активных веществ : метод. реком. – М. : Федер. центр Госсанэпиднадзора Минздрава России, 2004.

113. Савицкая, Г.В. Анализ хозяйственной деятельности предприятия : учебник / Г.В. Савицкая. – 2-е изд., перераб. и доп. – М. : ИНФРА-М, 2003. – 400 с.

114. Садовой, В.В. Оптимизация состава функциональных белково-углеводных пищевых продуктов / В.В. Садовой // Вестн. Северо-Кавказского государственного технического университета. – 2005. – № 1. – С. 25–27.

115. Седова, Л.Г. Ресурсы гребешка приморского, мидии грея, спизулы сахалинской и мерценарии Стимпсона в заливе Петра Великого (Японское море) / Л.Г. Седова, Д.А. Соколенко, Г.А. Пономарева. – Деп. рукопись 1409-рх200. Дата депонирования: 02.10.2007. ГРНТИ: 341.33.15.35.11.21.

116. Силина, А.В. Питание и рост приморского гребешка на различных типах донных осадков / А.В. Силина, Н.В. Жукова // Изв. РАН. Сер. Биол. – 2007. – № 1. – С. 68–74.

117. Скарлато, О.А. Двустворчатые моллюски умеренных широт западной части Тихого океана: моногр. / О.А. Скарлато. – Л. : Наука, 1981. – 480 с.

118. Соколенко, Д.А. Распределение и ресурсы спизулы сахалинской *Spisula sachalinensis* в прибрежных водах Приморья / Д.А. Соколенко, Л.Г. Седова // Изв. ТИНРО. – 2008. – Т. 155. – С. 66–75.

119. Соловьёва, Н.И. Матриксные металлопротеазы и их биологические функции / Н.И. Соловьёва // Биоорган. химия. – 1998. – Т. 24, № 4. – С. 245–255.

120. Соловьёва, Н.И. Основные металлопротеазы соединительнотканного матрикса / Н.И. Соловьёва // Биоорган. химия. – 1994. – Т. 20, № 2. – С. 143–152.

121. Справочник по химическому составу и технологическим свойствам водорослей, беспозвоночных и морских млекопитающих. – М. : ВНИРО, 1999. – 262 с.

122. СТО 00471515-057-2017 «Гидролизат из двустворчатых моллюсков». Требования к качеству и безопасности. Требования к производству, хранению, реализации.

123. СТО 00471515-058-2017 «Сухие первые блюда Морской обед». Требования к качеству и безопасности. Требования к производству, хранению, реализации.

124. СТО 00471515-059-2017 «Галеты Арктика М». Требования к качеству и безопасности. Требования к производству, хранению, реализации.

125. Суховеева, М.В. Промысловые водоросли и травы морей Дальнего Востока: биология, распространение, запасы, технология переработки: моногр. / М.В. Суховеева, А.В. Подкорытова. – Владивосток : ТИНРО-Центр, 2006. – 243 с.

126. Табакаева, О.В. Микронутриентный состав пищевых частей промыслового двустворчатого моллюска *Anadara broughtoni* / О.В. Табакаева, А.В. Табакаев // Вопр. питания. – 2016. – Т. 85, № 1. – С. 92–98.

127. Тагер, А.А. Физико-химия полимеров : моногр. / А.А. Тагер ; под ред. А.А. Аскадского. – 4-е изд., перераб., доп. – М. : Научный мир, 2007. – 576 с.

128. Технический регламент Евразийского экономического союза "О безопасности рыбы и рыбной продукции" (ТР ЕАЭС 040/2016) [принят решением совета Евразийской экономической комиссии от 18 октября 2016 года № 162]. – 2016. – 21 с.

129. Технический регламент Таможенного союза "О безопасности пищевой продукции" (ТР ТС 021/2011) [утвержден решением комиссии Таможенного союза 09 декабря 2011]. – 2011. – 29 с.

130. Токаев, Э.С. Современный опыт и перспективы использования препаратов сывороточных белков в производстве функциональных напитков / Э.С. Токаев, Е.Н. Баженова, Р.Ю. Мироедов // Молочная промышленность. – 2007. – № 10. – С. 55–56.

131. Тутельян, В.А. Биологически активные добавки в питании человека : моногр. / В.А. Тутельян, Б.П. Суханов, А.Н. Австриевских, В.М. Поздняковский. – Томск : Изд-во науч.-техн. лит-ры, 1999. – 296 с.

132. Тутельян, В.А. Методические рекомендации МР 2.3.1.1915-04 Рекомендуемые уровни потребления пищевых и биологически активных веществ / В.А. Тутельян, А.К. Батурин, А.В. Васильев и др. – Утв. Федеральной службой по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека. – М., 2004а. – 41 с.

133. Тутельян, В.А. О концепции государственной политики в области здорового питания населения России к национальной программе здорового питания / В.А. Тутельян, А.В. Шабров, Е.И. Ткаченко // Клиническое питание. – 2004б. – № 2. – С. 2–4.

134. Тутельян, В.А. Питание и здоровье / В.А. Тутельян // Пищ. пром-сть. – 2004в. – № 5. – С. 5–6.

135. Федосеева, Е.В. Разработка технологии пресервов из молок лососевых с применением ферментирования : дис. … канд. техн. наук / Е.В. Федосеева. – Владивосток, 2015. – 158 с.

136. Фокина, Н.Н. Липидный состав мидий *Mytilus edulis* Белого моря. Влияние некоторых факторов среды обитания : моногр. / Н.Н. Фокина, З.А. Нефедова, Н.Н. Немова. – Петрозаводск : Карельский научный центр РАН, 2010. – 243 с.

137. Хардин, А.С. Изменения в составе жирных кислот моллюска *Mytilus edulis*, связанные с питанием микроводорослями / А.С. Хардин, Н.А. Айздайчер, Н.А. Латышев // Тез. докл. 5-й регион. конф. по актуальным проблемам экологии, морской биологии и биотехнологии. – Владивосток : ДВГУ, 2002. – С. 119–121.

138. Хочачка, П. Стратегия биохимической адаптации : моногр. / П. Хочачка, Дж. Сомеро. – М. : Мир, 1988. – 586 с.

139. Храмцов, А.Г. Феномен молочной сыворотки : моногр. / А.Г. Храмцов. – СПб. : Профессия, 2011. – 802 с.

140. Черников, Е.М. Состав и функциональные свойства творожной сыворотки в технологии фаршевых изделий / Е.М. Черников, Ю.Г. Базарнова // Научный журнал НИУ ИТМО. Серия «Процессы и аппараты пищевых производств». – 2014. – № 1. – С. 21–25.

141. Шапиро, Д.К. Практикум по биологической химии / Д.К. Шапиро. – Минск : Высш. шк., 1976. – 285 с.

142. Швидкая, З.П. Технология и химия консервов из нерыбных объектов промысла Дальневосточного бассейна : моногр. / З.П. Швидкая, Ю.Г. Блинов. – Владивосток : ТИНРО-Центр, 1998. – 118 с.

143. Явнов, С.В. Корбикула : моногр. / С.В. Явнов, В.А. Раков. – Владивосток : ТИНРО-Центр, 2002. – 145 с.

144. Явнов, С.В. Некоторые результаты изучения и промысла моллюсков рода Corbicula (Bivalvia) в бассейне реки Раздольной / С.В. Явнов // Изв. ТИНРО. – 2000. – Т. 127. – С. 334–341.

145. Adrio, J. Total synthesis and biological evaluation of tamandarin B analogues / J. Adrio, C. Cuevas, I. Manzanares, M.M. Joullie // J. Org. Chem. – 2007. – Vol. 72. – P. 5129–5138.

146. Aleman, A. Antioxidant activity of several marine skin gelatins / A. Aleman, B. Gimenez, P. Montero, M. Gomez-Guillen // LWT Food Sci. Technol. – 2011a. – Vol. 44. – P. 407–413.

147. Aleman, A. Contribution of Leu and Hyp residues to antioxidant and ACE-inhibitory activities of peptide sequences isolated from squid gelatin hydrolysate / A. Aleman, B. Gimenez, E. Perez-Santin et al. // Food Chem. – 2011b. – Vol. 125. – P. 334–341.

148. Aluko, R.E. Bioactive peptides / R.E. Aluko // Functional foods and nutraceuticals. Food science text serias. – N.Y. : Springer, 2012. – P. 37–61.

149. Baba, K. Effects of temperature and salinity on spawning of the brackish water bivalve Corbicula japonica in Lake Abashiri, Hokkaido, Japan / K. Baba, M. Tada, T. Kawajiriand, Y. Kuwahara // Marine Ecology Progress Series. – 1999. – Vol. 180. – P. 213–221.

150. Bartosz, G. Simple determination of peroxide radical-trapping capacity / G. Bartosz, A. Janaszewska, D. Ertel, M. Bartosz // Biochem. Mol. Biol. Int. – 1998. – Vol. 46. – P. 519–528.

151. Basack, S.B. Esterases of Corbicula fluminea as biomarkers of exposure to organophosphorus pesticides / S.B. Basack, M.L. Oneto, J.S. Fuchs et al. // Bull. of Environmental Contamination and Toxicology. – 1998. – Vol. 61(5). – P. 569–576.

152. Basen, T. Role of essential lipids in determining food quality for the invasive freshwater clam Corbicula fluminea / T. Basen, D. Creuzburg, K. Rothhaupt // J. of the North American Benthological Society. – 2011. – Vol. 30, № 3. – P. 653–664.

153. Bhakuni, D.S. Bioactive marine natural products / D.S. Bhakuni, D.S. Rawat // Springer : N.Y. and Anamaya Publishers : N.-Delhi, 2005.

154. Biesalski, H.K. Bioactive compounds: Definition and assessment of activity / H.K. Biesalski, L.O. Dragsted, I. Elmadfa et al. // Nutrition. – 2009. – Vol. 25. – P. 1202–1205.

155. Bordbar, S. High-Value Components and Bioactives from Sea Cucumbers for Functional Food / S. Bordbar, F. Anwar, N. Saari // Mar Drugs. – 2011. – Vol. 9(10). – P. 1761–1805.

156. Bougates, A. Purification and identification of novel antioxidant peptides from enzymatic hydrolysates of sardinelle (*Sardinella aurita*) by-products proteins / A. Bougates, N. Nedjar-Arroume, L. Manni et al. // Food Chem. – 2010. – Vol. 118. – P. 559–565.

157. Carreau, J.P. Adaptation of macro-scale method to the macro-scale for fatty acid metal transesterification of biological lipid extracts / J.P. Carreau, J.P. Dubacq // J. Chromatogr. – 1978. – Vol. 151. – P. 384–390.

158. Centenaro, G.S. Antioxidant activity of protein hydrolysates of fish and chicken bones / G.S. Centenaro, M.S. Mellado, C. Prentice-Hernández // Adv. J. Food Sci. Technol. – 2011. – Vol. 3. – P. 280–288.

159. Chan, E.J. What can we expect from omega-3 fatty acids? / E.J. Chan, L. Cho // Cleveland Clinic Journ. of Medicine. – 2009. – Vol. 76, № 4. – P. 245–251.

160. Chan, K.M. Endogenous skeletal muscle antioxidants / K.M. Chan, E.A. Decker // Crit. Rev. Food Sci. Nutr. – 1994. – Vol. 34. – P. 403–426.

161. Chen, H.M. Antioxidative properties of histidine-containing peptides designed from peptide fragments found in the digests of a soybean protein / H.M. Chen,

K. Muramoto, F. Yamaguchi et al. // J. Agric. Food Chem. – 1998. – Vol. 46. – P. 49–53.

162. Chen, X.E. Antioxidant activity and molecular weight distribution of in vitro gastrointestinal digestive hydrolysate from Flying squid (*Ommastrephes batramii*) skin-gelatin / X.E. Chen, N.N. Xie, X.B. Fang et al. // Food Sci. – 2010. – Vol. 31. – P. 123–130.

163. Cheng, S. Extraction of polysaccharides from Mytilus edulis and their anti-oxidant activity in vitro / S. Cheng, X. Yu, Y. Zhang // Shipin Gongye Keji. – 2010. – Vol. 31. – P. 132–134.

164. Chibuike, C.U. Chemometric Analysis of the Amino Acid Requirements of Antioxidant Food Protein Hydrolysates / C.U. Chibuike and R.E. Aluko // Int. J. Mol. Sci. – 2011. – № 12. – P. 3148–3161.

165. Choi, J.H. Biofunctional properties of enzymatic squid meat hydrolysate / J.H. Choi, K.T. Kim, S.M. Kim // Prev. Nutr. Food Sci. – 2015. – Vol. 20, № 1. – P. 67–72.

166. De Moreno, J.E. Lipid methabolism of the yellow clam, Mesodesma macroides: II. Polyunsaturated fatty acid methabolism / J.E. De Moreno, V.J. Moreno, R.R. Brenner // Lipids. – 1976. – № 7. – P. 561–566.

167. Dey, S. Antioxidative activity of protein hydrolysate produced by alcalase hydrolysis from shrimp waste (Penaeus monodon and Penaeus indicus) / S. Dey, K. Dora // J. Food Technol. – 2012. – Volo. 49. – P. 1–9.

168. Erdmann, K. The possible roles of food-derived bioactive peptides in reducing the risk of cardiovascular disease / K. Erdmann, B.W.Y. Cheung, H. Schröder // J. Nutr. Biochem. – 2008. – Vol. 19. – P. 643–654.

169. FAO yearbook: Fishery statistics (catches and kin dings). – 1990. – 70 p.

170. Folch, J. Simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissue / J. Folch, M.A. Lees // J. Biol. Chem. – 1957. – Vol. 226, № 1. – P. 497–509.

171. Freites, L. Fatty acid profiles of *Mytilus galloprovincialis* (Lmk) mussel of subtidal and rocky shore origin / L. Freites, M.J. Fernández-Reiriz, U. Labarta // Comp. Biochem. Physiol. B Biochem. Mol. Biol. – 2002. – Vol. 132. – P. 453–461.

172. Fujita, H. LKPNM: A prodrug-type ace-inhibitory peptide derived from fish protein / H. Fujita, M. Yoshikawa // Immunopharmacology. – 1999. – Vol. 44. – P. 123–127.

173. Gildberg, A. Utilisation of cod backbone by biochemical fractionation / A. Gildberg, J. Arnesen, M. Carlehog // Process Biochem. – 2002. – Vol. 38. – P. 475–480.

174. Gillis, T.E. Mitichondrial membrane composition of two arctic marine Bivalve mollusks, Serripes groenlandicus and Mya truncata / T.E. Gillis, J.S. Ballantyne // Lipids. – 1999. – Vol. 34, № 1. – P. 53–57.

175. Giménez, B. Improvement of the antioxidant properties of squid skin gelatin films by the addition of hydrolysates from squid gelatin / B. Giménez, J. Gómez-Estaca, A. Alemán // Food Hydrocolloids. – 2009. – Vol. 23, № 5. – P. 1322–1327.

176. Gomez-Guillen, M. Functional and bioactive properties of collagen and gelatin from alternative sources : A review / M. Gomez-Guillen, B. Gimenez, M. Lopez-Caballero, M. Montero // Food Hydrocoll. – 2011. – Vol. 25. – P. 1813–1827. doi: 10.1016/j.foodhyd.20011.02.007.

177. Grienke, U. Bioactive compounds from marine mussels and their effects on human health / U. Grienke, J. Silke, D. Tasdemir // Food Chem. – 2014. – Vol. 142. – P. 48–60. doi: 10.1016/j.foodchem.2013.07.027. Epub 2013 Jul 11.

178. Haefner, B. Drugs from the deep: Marine natural products as drug candidates / B. Haefner // Drug Discovery Today. – 2003. – Vol. 8. – P. 536–544.

179. Hanuša, L. Plasminogen's, fatty acids and alkyl glyceryl ethers of marine and freshwater clams and mussels / L. Hanuša, D.O. Levitskyb, I. Shkrob, V.M. Dembitsky // Food Chemistry. – 2009. – Vol. 116. – P. 491–498.

180. Hiwatari, T. Exotic hard clam in Tokyo BayIdentified as Mercenaria mercenaria by genetic analysis / T. Hiwatari, Y. Shinotsuka, K. Konata, M. Watanabe // Fish. Sci. -2006. – Vol. 72. –P. 578-584.

181. Honkanen, P. Consumer acceptance of (marine) functional food / P. Honkanen // Marine Functional Food, 1st ed. – Wageningen Academic Publishers: Wageningen, The Netherlands, 2009. – Vol. 1. – P. 141–154.

182. Hsu, K. Antiproliferative activity of peptides prepared from enzymatic hydrolysates of tuna dark muscle on human breast cancer cell line MCF-7 / K. Hsu, E. Li-Chan, C. Jao // Food Chem. – 2011. – Vol. 126. – P. 617–622.

183. Isay, S.V. Study on fatty acid composition of marine organisms. — I. Unsaturated fatty acids of Japan Sea invertebrates / S.V. Isay, N.G. Busarova // Comp. Biochem. Physiol. – 1984. – Vol. 77, № 4. – P. 803–810.

184. Je, J.Y. A novel angiotensin I converting enzyme inhibitory peptide from alaska pollack (Theragra chalcogramma) frame protein hydrolysate / J.Y. Je, P.J. Park, J.Y. Kwon, S.K. Kim // J. Agric. Food Chem. – 2004. – Vol. 52. – P. 7842–7845.

185. Je, J.Y. Antioxidant activity of a peptide isolated from alaska pollack (*Theragra chalcogramma*) frame protein hydrolysate / J.Y. Je, P.J. Park, S.K. Kim // Food Res. Int. – 2005. – Vol. 38. – P. 45–50.

186. Jimeno, J. New marine derived anticancer therapeutics / J. Jimeno, G. Faircloth, J.F. Soussa-Faro et al. // A journ. from the sea to clinical trials. Mar. drugs. – 2004. – Vol. 2. – P. 14–29.

187. Jumeri. Antioxidant and anticancer activities of enzymatic hydrolysates of solitary tunicate (Styela clava) / Jumeri, S.M. Kim // Food Sci. Biotechnol. – 2011. – Vol. 20. – P. 1075–1085.

188. Kadam, S., Prabhasankar P. Marine foods as functional ingredients in bakery and pasta products / S. Kadam, P. Prabhasankar // Food Res. Int. – 2010. – Vol. 43. – P. 1975–1980.

189. Kamau, S.M. The effect of enzymes and hydrolysis conditions on degree of hydrolysis and DPPH radical scavenging activity of whey protein hydrolysates / S.M. Kamau, R.R. Lu // Curr. Res. Dairy Sci. – 2011. – Vol. 3. – P. 25–35.

190. Kasai, A. Food Sources for the Bivalve *Corbicula japonica* in the Foremost Fishing Lakes Estimated from Stable Isotope Analysis / A. Kasai, H. Toyohara, A. Nakata et al. // Fishery Science. – 2006. – Vol. 72. – P. 105–114.

191. Kawashima, H. Fatty acid composition of various tissue lipids in the marine bivalves, Megangulus venulosus and Megangulus zyonoensis, from coastal water of Hokkaido, Northen Japan / H. Kawashima, M. Ohnishi // J. Oleo Sci. – 2003. – Vol. 52, № 6. – P. 309–315.

192. Kim, S. Purification and characterization of antioxidant peptide from hoki (Johnius belengerii) frame protein by gastrointestinal digestion / S. Kim, J. Je, S. Kim // J. Nutr. Biochem. – 2007. – Vol. 18. – P. 31–38.

193. Kim, S.K. Development and biological activities of marine-derived bioactive peptides : A review / S.K. Kim, I. Wijesekara // J. Funct. Foods. – 2010. – Vol. 2. –P. 1–9.

194. Korhonen, H. Bioactive peptides: production and functionality / H. Korhonen, A. Pihlanto // Int. Dairy J. – 2006. – Vol. 16. – P. 945–960

195. Koueta, N. Applications, uses and byproducts from Cephalopods / N. Koueta, H. Viala, E. Le Bihan // Cephalopod culture / Iglesias J., Fuentes L., Villanueva R. (Eds). – Netherlands : Springer, 2014. – P. 31–47.

196. Kumar, N. Purification and biochemical characterization of antioxidant peptide from horse mackerel (Magalaspis cordyla) viscera protein / N. Kumar, R. Nazeer, R. Jaiganesh // Peptides. – 2011. – Vol. 32. – P. 1496–1501.

197. Lee, C.H. A lipid extract of Perna canaliculus affects the expression of pro-inflamatory cytokines in a rat adjuvant-induced arthritis model / C.H. Lee, Y.K.C. Butt, M.S. Wong, S.C.L. Lo // European Annals of Allergy and Clinical Immunology. – 2008. – Vol. 40, № 4. – P. 148–153.

198. Lee, J. Didemnins, tamandarins and related natural products / J. Lee, J.N. Currano, P.J. Carroll, M.M. Joullie // Nat. Prod. Rep. – 2012. – Vol. 29. – P. 404–424.

199. Li, N. Transverse Variation of Food Compositions of Corbicula bivalves in a Tidal River with Series of Groins / N. Li, T. Tashiro, T. Tsujimoto // J. of Water Resource and Protection. – 2015. – Vol. 7. – P. 1473–1482.

200. Liu, R. Review of Antioxidant Peptides Derived from Meat Muscle and By-Products / R. Liu, L. Xing, Q. Fu et al. // Antioxidants. – 2016. – № 5. – P. 32– 47.

201. López-Exposito, I. Casein hydrolysates as a source of antimicrobial, antioxidant and antihypertensive peptides / I. López-Exposito, A. Quirós, L. Amigo, I. Recio // Lait. – 2007. – Vol. 87. – P. 241–249.

202. Lowry, O. Protein measurement with the Folin phenol reagent / O. Lowry, N. Rosenbrough, A. Parr, R. Randall // J. Biol. Chem. – 1951. – Vol. 193, № 1. – P. 265–276.

203. Matsushima, K. Oppenheim Purification and biochemical characteristics of two distinct human interleukins 1 from the myelomonocytic THP-1 cell line / K. Matsushima, D. Copeland, K. Onozak, J. Joost // Biochemistry. – 1986. – Vol. 25, № 11. – P. 3424–3429.

204. Mendis, E. Antioxidant properties of a radical-scavenging peptide purified from enzymatically prepared fish skin gelatin hydrolysate / E. Mendis, N. Rajapakse, S.K. Kim // J. Agric. Food Chem. – 2005. – Vol. 53. – P. 581–587.

205. Mizuta, S. Immunochemical and Immuno-histochemical Identification of a Minor Collagen in Raw Muscle of Decapod Mollusks / S. Mizuta, M. Muton, K. Sugihara, R. Yoshinaka // Journ. of Food Science. – 2000. – Vol. 65, № 4. – P. 570–574.

206. Murphy, K. Lipid, FA, and sterol composition of New Zealand green lipped mussel (*Perna canaliculus*) and Tasmanian blue mussel (*Mytilus edulis*) / K. Murphy, B. Mooney, N. Mann et al. // Lipids. – 2002. – Vol. 37, № 6. – P. 587–595.

207. Nakano, T. Life history and population dynamics of the surf clam, *Mactra veneriformis* (Bivalvia: Mactridae), on an estuarine intertidal sand flat in western Kyushu, Japan / T. Nakano, J. Nasuda, Y. Agata et al. // Molluscan Research. – 2012. – Vol. 32(3). – P. 159–176.

208. Naqash, S.Y. Antioxidant activity of hydrolysates and peptide fractions of Nemipterus japonicus and Exocoetus volitans muscle / S.Y. Naqash, R.A. Nazeer // J. Aquat. Food Prod. Technol. – 2010. – Vol. 19. – P.180–192.

209. Neklyudov, A. Properties and uses of protein hydrolysates (Review) / A. Neklyudov, A. Ivankin, A. Berdutina // Appl. Biochem. Microbiol. – 2000. – Vol. 36. – P. 452–459.

210. Ovissipour, M. The effect of enzymatic hydrolysis time and temperature on the properties of protein hydrolysates from Persian sturgeon (*Acipenser persicus*) viscera / M. Ovissipour, A. Abedian, A. Motamedzadegan et al. // Food Chem. – 2009. – Vol. 115. – P. 238–242.

211. Ovodova, R.G. The structure of mytilan, a bioglycan – immunomodulator isolated from the mussel *Crenomytilus grayanus* / R.G. Ovodova, V.E. Glazkova, L.V. Mikheiskaya et al. // Carbohydrate Research. – 1992. – Vol. 223. – P. 221–226.

212. Pena-Ramos, E. Fractionation and characterisation for antioxidant activity of hydrolysed whey protein / E. Pena-Ramos, Y. Xiong, G. Arteaga // J. Sci. Food Agric. – 2004. – Vol. 84. – P. 1908–1918.

213. Picot, L. Antiproliferative activity of fish protein hydrolysates on human breast cancer cell lines / L. Picot, S. Bordenave, S. Didelot et al. // Process Biochem. – 2006. – Vol. 41. – P. 1217–1222.

214. Plaza, M. In the search of new functional food ingredients from algae / M. Plaza, A. Cifuentes, E. Ibáñez // Trends Food Sci. Technol. – 2008. – Vol. 19. – P. 31–39.

215. Pollero, R.J. Seasonal changes in lipid and fatty acid composition of the freshwater mollusk, *Diplodom patagonicus* / R.J. Pollero, R.R. Brenner, E.G. Gros // Lipids. – 1981. – Vol. 16, № 2. – P. 109–113.

216. Rajanbabu, V. Applications of antimicrobial peptides from fish and perspectives for the future / V. Rajanbabu, J.Y. Chen // Peptides. – 2011. – Vol. 32. – P. 415–420.

217. Rajapakse, N. A novel anticoagulant purified from fish protein hydrolysate inhibits factor Xiia and platelet aggregation / N. Rajapakse, W.K. Jung, E. Mendis et al. // Life Sci. – 2005. – Vol. 76. – P. 2607–2619.

218. Ramos, C.S. Molecular and carbon isotopic variations in lipids in rapidly settling particles during a spring phytoplankton bloom / C.S. Ramos, C.C. Parrish, T.A.O. Quibuyen, T.A. Abrajano // Organic geochemistry. – 2003. – Vol. 34. – P. 195–207.

219. Rasmussen, R.S. Marine biotechnology for production of food ingredients / R.S. Rasmussen, M.T. Morrissey // Adv. Food Nutr. Res. – 2007. – Vol. 52. – P. 237–292.

220. Rustad, T. Possibilities for the utilisation of marine by-products / T. Rustad, I. Storrø, R. Slizyte // Int. J. Food Sci. Technol. – 2011. – Vol. 46. – P. 2001–2014.

221. Ryan, J.T. Bioactive peptides from muscle sources: Meatandfish / J.T. Ryan, R.P. Ross, D. Bolton et al. // Nutrients. – 2011. – Vol. 3. – P. 765–791.

222. Saito, H. Lipid and FA composition of the pearl oyster Pinctada fucata martensii: influence of season and maturation / H. Saito // Lipids. – 2004. – Vol. 39(10). – P. 997–1005.

223. Sasaki, S. Seasonal Variations of chemical components in Surf clam (*Spisula sachalinensis*) / S. Sasaki, T. Ohta // Food Scl. Technol. Res. – 1999. – Vol. 5, № 3. – P. 311–315.

224. Schwager, J. Challenges in discovering bioactives for the foodindustry / J. Schwager, M.H. Mohajeri, A. Fowler, P. Weber // Curr. Opin. Biotechnol. – 2008. – Vol. 19. – P. 66–72.

225. Sheih, I. Anticancer and antioxidant activities of the peptide fraction from algae protein waste / I. Sheih, T. Fang, T. Wu, P. Lin // J. Agric. Food Chem. – 2010. – Vol. 58. – P. 1202–1207.

226. Sheih, I.C. Antioxidant properties of a new antioxidative peptide from algae protein waste hydrolysate in different oxidation systems / I.C. Sheih, T.K. Wu, T.J. Fang // Bioresour. Technol. – 2009. – Vol. 100. – P. 3419–3425.

227. Shilabin, A.G. In vitro and in vivo evaluation of select kahalalide F analogs with antitumor and antifungal activities / A.G. Shilabin, M.T. Hamann // Bioorg. Med. Chem. – 2011. – Vol. 19. – P. 6628–6632.

228. Simmons, T. Marine natural products as anticancer drugs / T. Simmons, E. Andrianasolo, K. McPhail et al. // Mol. Cancer. Ther. – 2005. – Vol. 4. – P. 333–342.

229. Siró, I. Functional food. Product development, marketing and consumer acceptance-are view / I. Siró, E. Kápolna, B. Kápolna, A. Lugasi // Appetite. – 2008. – Vol. 51. – P. 456–467.

230. Smital, T. The chemosensitizers of multixenobiotic resistance mechanism in aquatic invertebrates: A new class of pollutants. Mutation Research / T. Smital, B. Kurelec // Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis. – 1998. – Vol. 399, № 1. – P. 43–53.

231. Suarez-Jimenez, G.M. Bioactive Peptides and Depsipeptides with Anticancer Potential: Sources from Marine Animals / G.M. Suarez-Jimenez, A. Burgos-Hernandez, J.-M. Ezquerra-Brauer // Mar. Drugs. – 2012. – Vol. 10. – P. 963–986.

232. Suetsuna, K. Isolation and characterization of free radical scavenging activities peptides derived from casein / K. Suetsuna, H. Ukeda, H. Ochi // J. Nutr. Biochem. – 2000. – Vol. 11. – P. 128–131.

233. Sukumaran, S. A phase I study to determine the safety, tolerability and maximum tolerated dose of green-lipped mussel (*Perna canaliculus*) lipid extract, in patients with advanced prostate and breast cancer / S. Sukumaran, K.B. Pittman, W.K. Patterson et al. // Annals of Oncology. – 2010. – Vol. 21, № 5. – P. 1089–1093.

234. Theodore, A. Antioxidative activity of protein hydrolysates prepared from alkaline-aided channel catfish protein isolates / A. Theodore, S. Raghavan, H. Kristinsson // J. Agric. Food Chem. – 2008. – Vol. 56. – P. 7459–7466.

235. Vermeirssen, V. Bioavailability of angiotensin I converting enzyme inhibitorypeptides / V. Vermeirssen, J.V. Camp, W. Verstraete // Br. J. Nutr. – 2007. – Vol. 92. – P. 357–366.

236. Vioque, J. Obtención y aplicaciones de hidrolizados proteicos / J. Vioque, A. Clemente, J. Pedroche et al. // Grasas y Aceites. – 2001. – Vol. 52. – P.132–136.

237. Walker, J.M. Production of Protein Hydrolysates Using Enzymes : The Protein Protocols Handbook / J.M. Walker, P.J. Sweeney. – 2nd ed. – Humana Press : Hatfield, UK, 2002. – 456 p.

238. Wang, Y. Oyster (*Crassostrea gigas*) hydrolysates produced on a plant scale have antitumor activity and immunostimulating effects in BALB/c Mice / Y. Wang, H. He, G. Wang et al. // Mar. Drugs. – 2010. – Vol. 8. – P. 255–268.

239. Wijesekara, I. Angiotension-i-nverting enzyme (ace) inhibitors from marine resources: Prospects in the pharmaceutical industry / I. Wijesekara, S.K. Kim // Mar. Drugs. – 2010. – Vol. 8. – P. 1080–1093.

240. Zhao, Y. Antihypertensive effect and purification of an ACE inhibitory peptide from sea cucumber gelatin hydrolysate / Y. Zhao, B. Li, Z. Liu et al. // Process Biochem. – 2007. – Vol. 42. – P. 1586–1591.

241. Zhu, C.F. Effect of marine collagen peptides on markers of metabolic nuclear receptors in type 2 diabetic patients with/without hypertension / C.F. Zhu, G.Z. Li, H.B. Peng et al. // Biomed. Environ. Sci. – 2010. – Vol. 23. – P. 113–120.

242. Zhuang, Y. Optimization of antioxidant activity by response surface methodology in hydrolysates of jellyfish (Rhopilema esculentum) umbrella collagen / Y. Zhuang, X. Zhao, B. Li // J. Zhejiang Univ. Sci. – 2009. – Vol. 10. – P. 572–579.

243. Zhukova, N.V. Non-mehtylene-interrupted dienoic fatty acids in mollusks from the Sea of Japan / N.V. Zhukova, V.I. Svetashev // Comp. biochem. physiol. – 1986. – Vol. 83B, № 3. – P. 643–646.

ПРИЛОЖЕНИЯ

Приложение А

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ

ПАТЕНТ

НА ИЗОБРЕТЕНИЕ

№ 2580157

СПОСОБ ПОЛУЧЕНИЯ ПИЩЕВОГО ПРОДУКТА, ОБЛАДАЮЩЕГО БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫМИ СВОЙСТВАМИ ИЗ ГИДРОБИОНТОВ

Патентообладатель(ли): ***Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования "Дальневосточный государственный технический рыбохозяйственный университет" (RU)***

Автор(ы): ***см. на обороте***

Заявка № **2014154428**

Приоритет изобретения **30 декабря 2014 г.**

Зарегистрировано в Государственном реестре изобретений Российской Федерации ***14 марта 2016 г.***

Срок действия патента истекает **30 декабря 2034 г.**

Руководитель Федеральной службы по интеллектуальной собственности

Г.П. Ивлиев

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ

(19) RU (11) 2580157 (13) C1

(51) МПК
A23L 17/00 (2016.01)

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

(21)(22) Заявка: 2014154428/13, 30.12.2014

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
30.12.2014

Приоритет(ы):
(22) Дата подачи заявки: 30.12.2014

(45) Опубликовано: 10.04.2016 Бюл. № 10

(56) Список документов, цитированных в отчете о поиске: RU2171066C1, 27.07.2001. RU2490927C1, 27.08.2013. RU2066105C1, 10.09.1996.

Адрес для переписки:
690087, г. Владивосток, ГСП, ул. Луговая, 52Б, ФГБОУ ВПО "Дальрыбвтуз", отдел по охране интеллектуальных прав, Первунинской Т.А.

(72) Автор(ы):
Ковалев Николай Николаевич (RU),
Есипенко Роман Владимирович (RU),
Позднякова Юлия Михайловна (RU)

(73) Патентообладатель(и):
Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования "Дальневосточный государственный технический рыбохозяйственный университет" (RU)

(54) СПОСОБ ПОЛУЧЕНИЯ ПИЩЕВОГО ПРОДУКТА, ОБЛАДАЮЩЕГО БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫМИ СВОЙСТВАМИ ИЗ ГИДРОБИОНТОВ

(57) Формула изобретения

1. Способ получения пищевого продукта, обладающего биологически активными свойствами из гидробионтов, включающий подготовку сырья, ферментативную обработку, инактивацию фермента, фильтрование и сушку, отличающийся тем, что в качестве гидробионтов используют двустворчатых моллюсков: корбикулу Corbicula japonica, или спизулу Mactra sachalinensis, или мерценарию Mercenaria stimpsoni, которые после подготовки смешивают с водой в соотношении 1:1-1:3, а перед ферментированием в реакционную смесь вносят молочную сыворотку в соотношении 1:0,5-1:1.

2. Способ по п. 1, отличающийся тем, что в качестве ферментного препарата используют протамекс или мегатерин в количестве из расчета 1,5-2 П/Е на 1 г сырья.

RU 2580157 C1

Приложение Б

УТВЕРЖДАЮ

Исполнительный директор

ООО «ФармОушен Лаб»

О.Ю. Музалева

«22» августа 2016 г

АКТ

о внедрении технологии ферментолизатов моллюсков и сухих первых блюд на их основе

Комиссия в составе:

от ООО « ФармОушен Лаб»:

Исп. директор	О.Ю. Музалева
Главный технолог	А.Ф. Гришаков
Начальник испытательной лаборатории	Т.В. Харновец
от Дальрыбвтуза:	
Директор НИИиБ	Ю.М. Позднякова
Младший научный сотрудник	Р.В. Есипенко

Составили настоящий акт о том, что в период 06 июня по 19 августа 2016 г., в условиях ООО «ФармОушен Лаб» была выпущена опытная партия ферментолизатов моллюсков и сухих первых блюд «Морской обед».

Технологический процесс изготовления заключался в следующем: моллюски промывались проточной питьевой водой для удаления песка и ила. Избыточная влага удалялась путем выдерживания моллюсков на перфорированной поверхности. Мягкие ткани отделялись от створок и направлялись на измельчение. Гомогенат моллюсков закладывали в реактор из нержавеющей стали и добавляли молочную сыворотку и раствор ферментного препарата. По окончании ферментолиза проводили инактивацию и фильтрацию для отделения возможного осадка в виде частиц не ферментолизованных мягких тканей моллюсков.

В случае получения сублимированного ферментолизата реакционную смесь охлаждали до температуры 20-25°С перед розливом в кюветы для последующей сушки.

В случае получения сухих первых блюд производили добавление компонентов в ферментолизат в соответствии с рецептурой продукта. Смешивание жидкого ферментолизата и сухих компонентов происходило в смесительном баке из нержавеющей стали, снабженного верхнеприводной мешалкой полученную смесь разливали в алюминиевые формы толщиной слоя 3±0,2 см, на полуавтоматическом разливном аппарате МР-02 для последующей сублимации.

Сублимационную сушку проводили на вакуумном сушильном аппарате UT-4660V полочного типа при начальной температуре –40 ± 2 °С и температуре досушивания +30 ± 2 °С. Время процесса сушки 10–12 ч. Остаточная влага в продукте составляла 6 %.

Сублимированный ферментолизат расфасовывался в вертикальном фасовочно-упаковочном автомате «ПИТПАК 1005М», предельной массой продукта 60±1 г. Сухие первые блюда фасовали в пакеты из комбинированных термосвариваемых и многослойных полимерных материалов, обеспечивающих сохранность упакованного продукта.

Было изготовлено 2000 единиц продукции, из них сухие первые блюда «Морской обед» (1000 шт), ферментолизат моллюсков (1000 шт).

Полученная продукция была представлена на дегустационное совещание, состоявшееся на ООО « ФармОушен Лаб» 22 августа 2016 г.

Результаты органолептической оценки показали, что все представленные образцы имели привлекательный внешний вид и консистенцию. При дегустации отмечено, что полученные продукты имеют насыщенный запах и вкус, свойственный моллюскам. Все представленные образцы были одобрены. Члены дегустационной комиссии отметили приемлемость экспериментальных образцов для промышленного производства.

Подписи:

О.Ю. Музалева
А.Ф. Гришаков
Т.В. Харновец
Ю.М. Позднякова
Р.В. Есипенко

Приложение В

ФЕДЕРАЛЬНОЕ АГЕНТСТВО ПО РЫБОЛОВСТВУ

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования

«Дальневосточный государственный технический рыбохозяйственный университет»

(ФГБОУ ВО «ДАЛЬРЫБВТУЗ»)

УТВЕРЖДАЮ:
Врио ректора
ФГБОУ ВО «Дальрыбвтуз»
_____ Н.К. Зорченко
«____» _____ 2017 г.

СТАНДАРТ ОРГАНИЗАЦИИ

ГИДРОЛИЗАТ ИЗ ДВУСТВОРЧАТЫХ МОЛЛЮСКОВ

Требования к качеству и безопасности.
Требования к производству, хранению, реализации

СТО 00471515-057-2017

Контролируемые экземпляры – 3

Экземпляр № – 1

Владивосток
2017

Приложение Г

ФЕДЕРАЛЬНОЕ АГЕНТСТВО ПО РЫБОЛОВСТВУ

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования

«Дальневосточный государственный технический рыбохозяйственный университет»

(ФГБОУ ВО «ДАЛЬРЫБВТУЗ»)

УТВЕРЖДАЮ:
Врио ректора
ФГБОУ ВО «Дальрыбвтуз»
_____ Н.К. Зорченко
_____ 2017 г.

СТАНДАРТ ОРГАНИЗАЦИИ

СУХИЕ ПЕРВЫЕ БЛЮДА «МОРСКОЙ ОБЕД»
Требования к качеству и безопасности.
Требования к производству, хранению, реализации

СТО 00471515-058-2017

Контролируемые экземпляры – 3

Экземпляр № – 1

Владивосток
2017

Приложение Д

ФЕДЕРАЛЬНОЕ АГЕНТСТВО ПО РЫБОЛОВСТВУ

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования

«Дальневосточный государственный технический рыбохозяйственный университет»

(ФГБОУ ВО «ДАЛЬРЫБВТУЗ»)

УТВЕРЖДАЮ:
Врио ректора
ФГБОУ ВО «Дальрыбвтуз»
_____ Н.К. Зорченко
_____ 2017 г.

СТАНДАРТ ОРГАНИЗАЦИИ

ГАЛЕТЫ «АРКТИКА М»
Требования к качеству и безопасности.
Требования к производству, хранению, реализации

СТО 00471515-059-2017

Контролируемые экземпляры – 3

Экземпляр № – 1

Владивосток
2017