ТЕХНОЛОГИЯ ОБРАБОТКИ ГИДРОБИОНТОВ**УДК 664.97.037.5****В.Д. Богданов, А.А. Симдянкин, А.В. Назаренко***

Дальневосточный государственный технический
рыбохозяйственный университет,
690087, г. Владивосток, ул. Луговая, 52б

**ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ СТЕПЕНИ
ДЕЗИНТЕГРАЦИИ ТРЕПАНГА В ПРОЦЕССЕ КРИООБРАБОТКИ
НА ПИЩЕВУЮ ЦЕННОСТЬ ЕГО СУХОГО КОНЦЕНТРАТА**

С целью исследования влияния степени измельчения трепанга в процессе криообработки на молекулярную массу белков и биологическую ценность его сухого концентрата изучен дальневосточный трепанг *Stichopus japonicus*, выловленный в бухте Северной зал. Славянка (Японское море). В ходе исследований установлено влияние температуры замораживания трепанга на размер частиц его тканей после измельчения: чем ниже температура замораживания, тем меньше их размеры. Это в свою очередь влияет на интенсивность процесса сублимационной сушки: при снижении температуры сырья перед измельчением от минус 5 до минус 30 °С содержание воды в сухом концентрате трепанга уменьшается в 1,7 раза. Определено влияние холодильной обработки и процесса измельчения на молекулярную структуру белков. Замораживание и последующее измельчение оказывают деструктурирующее воздействие на белковые макромолекулы, прежде всего коллагеновые, формирующие ткань мышечного мешка трепанга, что способствует подготовке биологического материала к лучшему усвоению организмом человека. В измельченном образце высокомолекулярные белки, по сравнению с неизмельченным образцом, представлены фракциями с более низкими молекулярными массами. В нем отсутствует большая часть фракций средномолекулярных белков, а низкомолекулярные белки представлены только фракциями с молекулярными массами 15 и 50 кДа. Кроме того, сублимационная сушка как технологический процесс, воздействующий на сырье, приводит к небольшому снижению молекулярной массы белков тканей трепанга. Выявлено, что наиболее рациональным размером частиц сухого концентрата трепанга является 4–50 мкм. Продукт с частицами такого размера обладает более высокой относительной биологической ценностью.

Ключевые слова: трепанг, криообработка, измельчение, молекулярная масса, пищевая ценность, сухой концентрат.

DOI: 10.26428/1606-9919-2018-192-224-230.

Bogdanov V.D., Simdiankin A.A., Nazarenko A.V. Investigation of influence of the sea cucumber disintegration in the process of cryoprocessing on nutritional value of its dry concentrate // *Izv. TINRO*. — 2018. — Vol. 192. — P. 224–230.

Influence of shredding on molecular weight and biological value of dry concentrate is investigated for the sea cucumber *Stichopus japonicus* from the Severnaya Bay (Peter the Great

* Богданов Валерий Дмитриевич, доктор технических наук, профессор, проректор, e-mail: bogdanovvd@dgtru.ru; Симдянкин Андрей Андреевич, старший преподаватель, e-mail: And-sim@mail.ru; Назаренко Антон Валерьевич, старший преподаватель, e-mail: NazAnton@yandex.ru.

Bogdanov Valery D., D.Sc., professor, e-mail: bogdanovvd@dgtru.ru; Simdiankin Andrei A., senior lecturer, e-mail: And-sim@mail.ru; Nazarenko Anton V., senior lecturer, e-mail: NazAnton@yandex.ru.

Bay, Japan Sea). Size of particles of the shredded tissue depends on temperature of freezing: the lower the temperature, the smaller the particles. This dependence affects on intensity of the freeze-drying: decreasing of the raw material temperature from minus 5 to minus 30 °C causes the water content lowering in 1.7 times. The freezing and subsequent shredding have destructuring effect on the protein macromolecules, primarily collagens of the muscles, that contributes to their better absorption by human organism. In the crushed sample, the high-molecular proteins have lower molecular weights, the medium-molecular proteins are almost absent, and the low-molecular proteins are presented by fractions with molecular weight 15 and 50 kDa. The freeze-drying itself contribution to lowering of the proteins molecular weight is evaluated as insignificant. The optimal size of the particles after disintegration is 4–50 µm — this size provides the highest biological value of the dry sea cucumber concentrate.

Key words: sea cucumber, cryogenic processing, shredding, molecular weight, nutritional value, dry concentrate.

Введение

При переработке трепанга (Богданов и др., 2016а) рациональной является технология, основанная на принципах криообработки, при которой сырье сразу после вылова направляется на замораживание, криоизмельчение и сублимационную сушку, превращаясь в готовый концентрированный продукт. Известно, что при измельчении мышечной ткани рыбы происходят не только механические, но и химические изменения ее структурных элементов, обуславливающие связывание воды с белками и повышение их эмульгирующих свойств. При измельчении происходит освобождение актомиозина и расщепление его на актин и миозин (Маслова, Маслов, 1981). Причем тонкое измельчение рыбных тканей ведет к частичному разрушению клеточных структур, что может влиять на молекулярные структуры белков, входящих в их состав (Рогов и др., 2005). К примеру, для растительных белков известно, что в начале процесса замеса хлебного теста, так же как и при измельчении семян зерна, наблюдается их тепловая денатурация. В дальнейшем, при интенсивной механической обработке теста, возможна деструкция белков с разрывом дисульфидных и даже пептидных связей (Пищевая химия, 2004). Также в литературных источниках встречаются сведения, косвенно указывающие на возможность таких изменений при измельчении тканей гидробионтов. В основном они связаны с результатами исследований функционально-технологических свойств сырья под воздействием различных технологических факторов (Рогов и др., 2005; Петрова, Богданов, 2013). При этом привлекает внимание факт отсутствия научных работ по исследованию непосредственного влияния механического воздействия на белковые структуры гидробионтов. Вместе с тем деградация макромолекул белков, изменение их молекулярных масс, вероятно, влияет не только на реологические и физические свойства продукта, но и на его пищевую и биологическую ценность.

Цель данной работы — исследование влияния степени измельчения трепанга на молекулярную массу белков трепанга и биологическую ценность его сухого концентрата.

Материалы и методы

Объектами исследования являлись дальневосточный трепанг (*Stichopus japonicus*), выловленный в бухте Северной зал. Славянка (Хасанский район, Приморский край), относящийся к типу иглокожих, классу голотурий, и сухой концентрат, полученный из него по известной криотехнологии (Левин, 2000; Богданов и др., 2016а).

При подготовке продукта к криоизмельчению свежевывловленный трепанг замораживали в морозильном аппарате, оборудованном холодильной установкой АМЕ-L-3x2EC2 на базе трех полугерметичных поршневых компрессоров 2EC-22-40С фирмы Bitzer. Измерение температуры осуществляли с помощью датчиков WT-1, WT-5 с диапазоном –70...300 °C, с точностью измерения ±0,1 °C (Богданов и др., 2016б).

Мороженое сырье измельчали на центробежной дробилке с двуххлзвийным ножом, частота вращения ножевого вала 130, 166, 193, 207 с⁻¹, продолжительность обработки 8 с.

Измерение гранулометрического состава сухого концентрата трепанга производилось на лазерном анализаторе Morfologi G 3SE-ID.

Исследование размеров частиц сырого трепанга, измельченного при различной температуре замораживания, проводили на лазерном анализаторе частиц ANALYSETTE-22 NanoTec (FRITSCH) по методике, прилагаемой к прибору. Данный прибор позволяет исследовать частицы с размерами 0,01...1000 мкм, т.е. от 10 нм до 1 мм. При работе с материалами, включающими более крупные частицы, использовали методику ситового анализа.

Определение молекулярной массы белков проводили методом электрофореза в 10 %-ном ($C = 3,2$) полиакриламидном геле. Денситограммы с пластинок снимали при помощи программы Image J. Молекулярную массу белков определяли по калибровочным графикам, построенным в координатах зависимости R_f (относительная электрофоретическая подвижность белков) от молекулярной массы по значениям, соответствующим наборам стандартных маркерных белков. В работе использовали маркеры фирмы Sigma — Aldrich (США) ColorBurst™ Electrophoresis Marker High Range, mol wt 20,000–220,000 Da. Эти маркеры представляют собой набор белков с разной молекулярной массой от 20 до 220 кДа без указания названий белков. Принимая во внимание данные, опубликованные в работе Н.Н. Ковалева с соавторами (2016), условно выделили три фракции белков трепанга: высокомолекулярная — выше 220 кДа, среднемолекулярная — от 75 до 220 кДа и низкомолекулярная — менее 75 кДа.

Содержание воды в сухом концентрате трепанга определяли на анализаторе влажности ЭВЛАС-2М в соответствии с инструкцией к данному прибору.

Важным показателем пищевой ценности продукта является его относительная биологическая ценность (ОБЦ). При определении ОБЦ сухого концентрата трепанга использовали метод А.Д. Игнатъева с соавторами (1980). В качестве тест-культуры применяли живые клетки инфузории *Tetrahymena pyriformis*.

Относительную биологическую ценность исследовали у трех образцов сухого концентрата трепанга: мелкого помола (4–30 мкм); среднего помола (4–50 мкм); крупного помола (6–100 мкм) и контрольного образца (казеин). Из подготовленных образцов брали навески из расчета концентрации протеина в субстрате 0,2 %. При оценке казеина среднюю пробу разводили водой до получения в ней концентрации протеина 0,2 %.

Статистическую обработку данных осуществляли стандартным методом оценки результатов испытаний для малых выборок. Цифровые величины, указанные в таблицах и графиках, представляют собой арифметические средние, надежность которых (P) = 0,95, доверительный интервал (Δ) ± 10 %.

Результаты и их обсуждение

Известно, что при получении криофарша температура замораживания рыбы оказывает существенное влияние на процесс ее измельчения и степень дисперсности получаемого продукта (Фатыхов, Эрлихман, 1998). В связи с этим исследование влияния температуры замораживания трепанга перед измельчением на размеры частиц после его измельчения проводили с использованием режущей и ударной деформации. Мороженые образцы измельченного трепанга подвергали сублимационной сушке в течение 16 ч, после чего в них определяли содержание воды (табл. 1).

Таблица 1
Зависимость размера частиц измельченного трепанга от температуры замораживания
Table 1
Dependence of the particle size of shredded sea cucumber on temperature of freezing

Температура в центре образца, °С	Размер частиц, мм	Содержание воды после сушки, %
–5	3–10	4,5
–10	1–7	3,9
–15	1–5	–
–20	0,7–3,0	3,5
–25	0,5–2,0	–
–30	0,01–1,0	2,7

Из данных табл. 1 видно, что чем ниже температура замораживания экспериментальных образцов трепанга, тем меньше размеры частиц после их измельчения. При использовании устройств с режущей деформацией рациональной температурой измельчения является минус 30 °С, так как при этой температуре получается смесь из мышечной ткани трепанга и кристаллов льда с размером частиц от 0,01 до 1,0 мм. Если же температура замораживания выше, то после измельчения образуются частицы более крупные — от 0,5 до 10,0 мм. Следует отметить, что при температуре ниже минус 30 °С режущую деформацию использовать нельзя: тонкого измельчения ткани трепанга не происходит и для получения требуемого технологического эффекта необходимо применять измельчители с ударной деформацией. При измельчении ударной деформацией необходим постоянный подвод жидкого азота в зону измельчения для поддержания низкой температуры измельчаемого сырья, не выше минус 120 °С.

Степень измельчения материала оказывает влияние на условия его сублимационной сушки. Анализируя данные табл. 1, можно увидеть, что чем выше степень измельчения образцов трепанга, тем меньше в них содержание воды после сушки. Так, образец трепанга, измельченного при температуре минус 30 °С до размеров частиц 0,01–1,0 мм, имеет после сушки самую низкую влажность — 2,7 %, в то время как влажность образца, измельченного при температуре минус 5 °С, с размером частиц 3,0–10,0 мм составляет 4,5 %. Так как условия сушки образцов были совершенно одинаковы, из полученных результатов экспериментов следует, что чем выше степень дисперсности материала, тем эффективнее процесс его обезвоживания в условиях сублимационной сушки.

Исследовали влияние температуры замораживания и степени измельчения трепанга на изменение молекулярного состава его белков (рис. 1). На рис. 1 видно, что процесс измельчения, заключающийся в механическом разрушении замороженной мышечной ткани трепанга, затрагивает и молекулярные структуры белков как их основных строительных элементов. Если сравнить образцы на рис. 1 (А и Б), то образец, замороженный до температуры минус 20 °С и неизмельченный, представлен белками с широким спектром молекулярных масс. Выделено 9 пиков, свидетельствующих о наличии в тканях высокомолекулярных белков массой более 220 кДа, среднемолекулярных — 160–180 кДа и низкомолекулярных — от 15 до 72 кДа.

В измельченном образце (рис. 1, Б) выделено всего 5 пиков, показывающих, что в нем по сравнению с неизмельченным образцом среднемолекулярные белки представлены фракциями с более низкими молекулярными массами — 75 и 110 кДа. Также ограничен спектр фракций низкомолекулярных белков, они представлены только белками с молекулярной массой 15 и 50 кДа. Образец трепанга, измельченный при температуре минус 30 °С (Рис. 1, В), по составу фракций высоко- и среднемолекулярных белков аналогичен образцу на рис. 1 (Б), но в зоне низкомолекулярных белков он дополнительно еще представлен белками с молекулярной массой 20 кДа, что свидетельствует о меньшей степени воздействия более низкой температуры измельчения на молекулярные структуры его белков, даже при достижении в данном случае более высокой степени измельчения материала.

Таким образом, рассмотренные выше технологические приемы оказывают деформирующее воздействие на белковые макромолекулы, прежде всего коллагеновые, формирующие ткань мышечного мешка трепанга (Ковалев и др., 2016). Вероятно, происходит как расщепление белковых макромолекул на более мелкие агрегаты, так и конформационные изменения в белковых макроструктурах, связанные с денатурацией. Вместе с тем известно, что гидролитические изменения белков, например ферментативные, повышают их перевариваемость и усвояемость организмом человека и животных (Пищевая химия, 2004). Поэтому в целом отмеченные изменения можно оценить положительно, так как они способствуют подготовке биологического материала к лучшему усвоению в организме человека.

Цель второго этапа измельчения — придать порошкообразное состояние сухому концентрату трепанга после сублимационной сушки. Повторное измерение частиц

Рис. 1. Изменение молекулярной массы белков трепанга, измельченного при различных температурах: **А** — замороженный до температуры минус 20 °С, целый; **Б** — то же, но измельченный, частицы 0,7–3,0 мм; **В** — замороженный до температуры минус 30 °С, измельченный, частицы 0,01–1,0 мм

Fig. 1. Molecular weight of proteins for unbroken sea cucumber and shredded sea cucumber in dependence on temperature of shredding: **А** — minus 20 °С, unbroken; **Б** — minus 20 °С, particles of 0.7–3.0 mm; **В** — minus 30 °С, particles of 0.01–1.0 mm

показывает, что получен криопорошок трепанга с высокой степенью дисперсности — размеры частиц от 4 до 200 мкм (рис. 2).

Рис. 2. Распределение частиц сухого концентрата трепанга по размерам
Fig. 2. Size structure of the dry sea cucumber concentrate particles

Как видно на рис. 2, 43 % частиц сухого концентрата имеют размеры от 5 до 15 мкм, 54 % частиц — от 15 до 100 мкм, т.е. 97 % порошка сухого концентрата трепанга представлены частицами менее 100 мкм и только 3 % частиц имеют размеры от 100 до 200 мкм. Для данного образца также определяли влияние сублимационной сушки и повторного измельчения на молекулярную структуру белков (рис. 3).

На рис. 3 видно, что последующие после криоизмельчения трепанга сублимационная сушка и повторное измельчение также оказывают, хотя и небольшое, влияние на молекулярный состав белков мышечной ткани трепанга. По сравнению с образцом

Рис. 3. Молекулярная масса белков трепанга после сублимационной сушки и повторного измельчения

Fig. 3. Molecular weight of the sea cucumber proteins after freeze-drying and successive shredding

до сушки (см. рис. 1, В) в нем уменьшилось содержание среднемолекулярных белков за счет исчезновения белков с молекулярной массой 110 кДа.

Исследовали влияние степени измельчения сухого концентрата трепанга на его усвояемость живым биологическим объектом (табл. 2).

Оценка роста и развития инфузории в исследуемых продуктах, кол-во клеток

Table 2

Estimation of growth and development of infusoria in certain products, cells number

№ п/п	Исследуемый продукт	Время генерации инфузории, сут						ОБЦ, %
		0	1	5	10	15	20	
1	Трепанг мелкого помола	5,0	20,9	112	137,9	93,2	64,1	112,0
2	Трепанг среднего помола	5,0	18,2	101,3	127,3	147,5	92,8	101,3
3	Трепанг крупного помола	5,0	15,6	90,1	119,7	142,8	89,6	90,1
4	Казеин (контроль)	5,0	19,6	100	56,2	12,9	5,4	100

Установлено, что степень измельчения концентрата трепанга существенно влияет на рост и развитие *Tetrahymena pyriformis*. Как видно из данных табл. 2, на пятые сутки экспозиции максимальное количество выросших клеток (112) отмечено у образца 1 с наиболее высокой степенью измельчения, в свою очередь образец 2 оказывается средним по количеству выросших клеток — 101,3, а у образца 3 наименьшее количество выросших клеток — 90,1.

Таким образом, чем выше степень дисперсии порошка сухого концентрата трепанга, тем лучше он усваивается живой клеткой. Вывод обоснован для испытаний по стандартной методике исследования, где время генерации исследуемых образцов составляет 4–5 сут. Однако в связи с тем, что разработанный продукт является инновационным и отклик живой системы на него может быть специфическим, мы продлили сроки генерации и наблюдения за состоянием клеток инфузории до 20 сут.

Установлено, что на 15 и 20-е сут экспозиции максимальное количество выросших клеток *T. pyriformis* отмечено у образца 2, имеющего среднюю степень измельчения по сравнению с остальными исследуемыми образцами. Образец трепанга мелкого помола на 15 и 20-е сут экспозиции имел наименьший прирост клеток. Это может быть объяснено тем, что образец 1 имеет размеры частиц, приближающиеся к наноразмерам, что обуславливает высокую степень его усваивания в первые несколько суток экспозиции. Однако легкая доступность исследуемого продукта для живой клетки ведет к быстрому срабатыванию питательной среды, ее последующему истощению и в конечном счете к нехватке пищевых компонентов, необходимых для нормального существования живой клетки.

Таким образом, можно утверждать, что максимальное измельчение (образец 1) приводит к быстрому усвоению клеткой сухого концентрата трепанга. Однако степень

измельчения до средних размеров частиц (образец 2) является рациональной, так как способствует значительной пролонгации жизненного потенциала живой клетки. Данный отклик живой клетки для образца 2 можно объяснить оптимальными размерами частиц питательной среды, которые клетка может переработать и своевременно перевести в энергию.

Выводы

Установлено влияние температуры замораживания трепанга на размер частиц его тканей после измельчения: чем ниже температура замораживания, тем меньше их размеры. Это в свою очередь оказывает воздействие на интенсивность процесса сублимационной сушки: при снижении температуры сырья перед измельчением от минус 5 до минус 30 °С содержание воды в сухом концентрате трепанга уменьшается в 1,7 раза.

Определено влияние холодильной обработки и процесса измельчения на молекулярную структуру белков. Замораживание и последующее измельчение оказывают деструктурирующее воздействие на белковые макромолекулы, прежде всего коллагеновые, формирующие ткань мышечного мешка трепанга, что способствует подготовке биологического материала к лучшему усвоению организмом человека. В замороженном и измельченном образце по сравнению с неизмельченным образцом среднемолекулярные белки представлены фракциями с более низкими молекулярными массами — 75 и 110 кДа. В нем также ограничен спектр фракций низкомолекулярных белков, они представлены только белками с молекулярной массой 15 и 50 кДа. Экспериментально установлено, что сам по себе процесс сублимационной сушки и повторное измельчение приводят к небольшому снижению молекулярной массы белков трепанга.

Таким образом, применяемые в криотехнологии трепанга технологические операции и режимы (замораживание, измельчение, сублимационная сушка, повторное измельчение) ведут к изменениям в белковых структурах, положительно влияющим на усвоение готового продукта организмом человека.

Биологическими испытаниями на тест-культуре выявлено, что рациональным размером частиц сухого концентрата трепанга является 4–50 мкм. Продукт с частицами такого размера обладает наибольшей относительной биологической ценностью.

Список литературы

Богданов В.Д., Назаренко А.В., Симдянкин А.А. Криотехнология сухого пищевого концентрата из голотурий // Науч. тр. Дальрыбвтуза. — 2016а. — Т. 38. — С. 64–68.

Богданов В.Д., Симдянкин А.А., Назаренко А.В. Исследование процесса замораживания дальневосточного трепанга при его криообработке // Вестн. АГТУ. Сер. Рыб. хоз-во. — 2016б. — № 2. — С. 130–135.

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

Ковалев Н.Н., Позднякова Ю.М., Перцева А.Д., Тун Ч. Состав и антиоксидантные свойства ферментативного гидролизата мышечной ткани трепанга // Пищ. пром-сть. — 2016. — № 1. — С. 52–55.

Левин В.С. Дальневосточный трепанг. Биология, промысел, воспроизводство : моногр. — СПб. : Голанд, 2000. — 199 с.

Маслова Г.В., Маслов А.М. Реология рыбы и рыбных продуктов : моногр. — М. : Лег. и пищ. пром-сть, 1981. — 213 с.

Петрова Л.Д., Богданов В.Д. Структурированные многокомпонентные фаршевые системы на основе глубоководных рыб : моногр. — Владивосток : Дальнаука, 2013. — 223 с.

Пищевая химия : учеб. / А.П. Нечаев, С.Е. Траубенберг, А.А. Кочеткова и др. / под ред. А.П. Нечаева. — Изд. 3-е, испр. — СПб. : ГИОРД, 2004. — 640 с.

Рогов И.А., Бабакин Б.С., Фатыхов Ю.А. Криосепарация сырья биологического происхождения : моногр. — Рязань : Наше время, 2005. — 288 с.

Фатыхов Ю.А., Эрлихман В.Н. Криотехнология комплексной переработки гидробионтов // Изв. вузов. Пищевая технология. — 1998. — № 2–3. — С. 36–38.

Поступила в редакцию 24.07.17 г.

Принята в печать 26.02.18 г.