

**Министерство образования и науки Республики Казахстан**

**Инновационный Евразийский университет**

**На правах рукописи**

**УДК 637.5**

**КОШКЕЕВА ГУЛЬМИРА МАРАТЖАНОВНА**

**Биотехнология мясных продуктов из сырья  
пониженной биологической ценности**

**Диссертация на соискание академической степени  
магистра биотехнологии**

**Научный руководитель: докт. техн. наук, профессор Камербаев А.Ю.**

**Республика Казахстан  
Город Павлодар, 2009 год**

## РЕФЕРАТ

Разрешение вопросов рационального использования сырья с высоким содержанием соединительной ткани на сегодняшний день является актуальным и связано с дальнейшим изучением свойств и способов его обработки. Однако, переработка такого рода сырья сопровождается рядом трудностей технологического характера.

Отечественный и мировой опыт свидетельствуют о целесообразности применения ферментов, бактериальных заквасок и препаратов, обеспечивающих ускорение процессов созревания и мягчения мяса, получение высококачественных биологически полноценных гидролизатов и продуктов питания.

Биотехнологические методы обработки сырья мясной отрасли связаны с созданием прогрессивных технологий, в основном реализуемых в виде целенаправленного использования ферментных систем, бактериальных заквасок и препаратов.

Применение ферментов, бактериальных заквасок и препаратов приводит к значительному повышению биологической и технологической функциональности мясного сырья пониженной биологической ценности, позволяя улучшить свойства и выход продуктов за счет изменения структуры белков и трансформации свойств сложных биологических систем в получении мясопродуктов.

Практика применения ферментов, бактериальных заквасок и препаратов предусматривает различные способы обработки мясного сырья.

Одним из них является предубойная инъекция животных. Активатором в данном случае может быть любое вещество, способное активировать протеолитические ферменты, т. е. ферменты, которые гидролизуют белки. К ним относятся панкреатин, фицин, папаин, бромелин, грибковые и бактериальные протеазы и катепсин. Преимущество предубойной инъекции протеолитических ферментов в том, что они равномерно распределяются по сосудистой системе до убоя и, следовательно, способствуют обеспечению более однородной нежности мяса. Но в то же время этот способ относительно дорог вследствие высокой стоимости используемых ферментов.

Современная концепция совершенствования и развития производства базируется на ресурсосбережении как реальном источнике усиления сырьевой базы. В отечественной мясоперерабатывающей отрасли около 14 % белоксодержащих ресурсов остаются невостребованными. Среди них особый интерес представляет мясо с пониженной биологической ценностью, т.е. мясо с повышенным содержанием соединительной ткани.

Функционально-технологические свойства коллагенсодержащего сырья недостаточно высоки и не дают желаемого эффекта в формировании качественных показателей продуктов.

Анализ научно-технической и патентной литературы показал, что одним из перспективных направлений обработки мясного сырья пониженной биологической ценности с целью улучшения его функционально-технологических свойств является использование бактериальных культур и препаратов.

Проведенные исследования указывают на целесообразность проведения ферментации с выбранным препаратом стартовых культур *Lactobacillus bulgaricus* и *Staphylococcus carnosus* в количестве 0,05 % при температуре 30 °С в течение 6-8 часов до достижения мясным сырьем уровня pH 5,0-5,2, а также на необходимость раздельного внесения препарата стартовых культур с углеводным компонентом внутрь продукта, а поваренной соли и нитрита натрия на его поверхность.

Основным результатом проведенных исследований является повышение биологической ценности мясного сырья, существенное ускорение технологического процесса посола и созревания мясного сырья для производства мясных продуктов по сравнению с традиционными и снижение себестоимости конечного продукта, связанное с уменьшением продолжительности процесса и использованием в качестве стартовых широко распространенных препаратов молочнокислых бактерий.

## Содержание

Определения	6
Справка о патентном поиске	7
Введение	14
1 Ферментные препараты, стабилизация и методы контроля за распределением ферментов	15
1.1 Активаторы натуральных протеолитических ферментов	15
1.2 Коллаген разрушающие вещества	16
1.3 Контроль распределения ферментов	17
1.4 Обработанный и стандартный ферментный раствор	19
1.5 Обратимо инактивированные ферменты	22
1.6 Равномерное распределение ферментов	27
1.7 Стабилизированный очищенный ферментный препарат	28
1.8 Синергизм ферментов и антибиотиков	30
2 Применение ферментных препаратов и ферментирующих факторов для обработки мясного сырья	32
2.1 Обработка до посмертного окоченения	32
2.1.1 Синергизм антибиотиков и ферментов	32
2.1.2 Буферированный фермент в сочетании с желатином	34
2.1.3 Изотонический ферментный раствор, обладающий специфической активностью	34
2.1.4 Размягчение соединительной ткани	36
2.1.5 Ферментные растворы, буферированные холодной водой	37
2.1.6 Инъекция воды	38
2.1.7 Инъекция воды и газа	39
2.1.8 Инъекция воды и целлюлозной камеди	40
2.1.9 Инъекция цельной крови или цельного молока	41
2.2 Обработка мясного сырья после посмертного окоченения	43
2.2.1 Размягчающий препарат	43
2.2.2 Газ как носитель размягчающего реагента	45
2.2.3 Аэрозольные размягчающие препараты	48
2.2.4 Добавление трагаканта	49
2.2.5 Инактивация ферментов посредством углекислого газа или кислорода под высоким давлением	51
2.2.6 Кусковое мясо с размягченной серединой	52
2.2.7 Сбалансированная активность папаина и бромелина	54
2.2.8 Фермент, комплексообразующее вещество и крахмал	55
2.2.9 Ферментно-жировые препараты	56
2.2.10 Ферменты с основными солями пиррофосфата	57
2.2.11 Ферменты с высшими фосфатами натрия	60
2.2.12 Ферменты с нелинейными фосфатами в солевом растворе	61
2.3 Ускоренные методы созревания при повышенной контролируемой температуре	62
2.3.1 Отрубы, упакованные под вакуумом	63

2.3.2 Контролируемая атмосфера	64
2.4. Использование добавок для ускорения процесса созревания мясного сыря	65
2.5 Использование газовой атмосферы для ускорения процесса мягчения мясного сыря	65
2.5.1 Использование кислорода	65
2.5.2 Использование углекислого газа	66
3 Обработка мясного сыря с целью задержки ферментативной порчи	68
3.1 Предубойная инъекция адреналина для задержки ферментативной порчи	68
3.2 Стерилизация углекислым газом под давлением	72
4 Роль бактериальных культур и препаратов при переработке мясного сыря пониженной биологической ценности	77
Выводы	86
Список использованной литературы	87

## Определения

Активность протеолитического фермента - показатель размягчающего действия фермента, выраженный через единицы тирозина.

Трагакант – это сухой камеденосный (липкий) экссудат растений рода *Astragalus* вида *Astragalus gummifer*.

Пищевая ценность – понятие, отражающее всю полноту полезных свойств пищевого продукта, включая степень обеспечения физиологических потребностей человека в основных пищевых веществах, энергию и органолептические достоинства. Характеризуется химическим составом пищевого продукта с учетом его потребления в общепринятых количествах.

Биологическая ценность - показатель качества пищевого белка, отражающий степень соответствия его аминокислотного состава потребностям организма в аминокислотах для синтеза белка.

Энергетическая ценность количество энергии в килокалориях, высвобождаемой из пищевого продукта в организме человека для обеспечения его физиологических функций.

Срок хранения (реализации) - промежуток времени, в течение которого при соблюдении определенных условий продовольственное сырье, пищевые продукты сохраняют качество, установленное стандартом или другим нормативным документом.

Физиологическая потребность - объективная величина, определяемая природой и не зависящая от человеческих знаний, ее нельзя нормировать и рекомендовать.

Брожение - распад молочного сахара под действием микроорганизмов.

Ферментация - образование сгустка под действием ферментов.

Титруемая кислотность выражается в условных единицах - градусах Тернера (°Т). Под градусами Тернера понимают количество миллилитров 0,1 н. раствора едкого натра, необходимого для нейтрализации 100 мл (100 г) молока или продукта.

Аминокислотный скор - отношение количества каждой незаменимой аминокислоты в испытуемом белке к количеству этой же аминокислоты в гипотетическом белке с идеальной аминокислотной шкалой.

## СПРАВКА О ПАТЕНТНОМ ПОИСКЕ

Тема магистерской диссертации – «Биотехнология мясных продуктов из сырья пониженной биологической ценности»

Начало поиска – 01.01.1994. Окончание поиска – 01.01.2009.

Краткая характеристика разрабатываемого объекта технологии – совершенствование технологии переработки мясного сырья пониженной биологической ценности.

Таблица 1

Предмет поиска (объект, его составные части)	Цель поиска информации (для каких технических проблем или обеспечения каких показателей)	Страны поиска	Классификационные индексы		Ретроспективность поиска	Наименование источников информации, по которым проводится поиск
			УДК	МПК		
1	2	3	4	5	6	7
Способы переработки мясного сырья пониженной биологической ценности	совершенствование технологии переработки мясного сырья пониженной биологической ценности.	Казахстан, Россия	637.5		1994-2009	Офиц. бюлл. «Промышленная собственность» - Алматы: Казпатент (1998-2008). Офиц. бюлл. «Открытия, изобретения». – М.: ВНИИПИ (1998-2007). Офиц. бюлл. «Изобретения». М.: НИО «Поиск» (1999-2009). Реф. информ. «Изобретения стран мира». Вып. 100 (МКИ А23В 4/044).- М.: ВНИИТИ (1986-1991). Реф. информ. Изобретения стран мира». Вып.

						<p>100 (МКИ А23В 4/044).- М.: ВНИИТИ (1992- 1996). Журнал «Мясная индустрия». – М. (1991-2000). Обзорная ин- формация. Серия «Мясная про- мышленность».- М.: АгроНИИ- ТЭИМП Реф. информ. «Изобретения за рубежом».- М.: ВНИИПИ</p>
--	--	--	--	--	--	--

Раздел 1. Поиск проведен по следующим материалам, изученным в ходе выполнения дипломной работы (Таблица 2).

Таблица 2

Предмет поиска (объект, его составные части)	Страны поиска	Классификационные индексы (НКИ, НДК, УДК)	По фонду какой организации проведен поиск	Научно-техническая документация, дата публикации, выходные данные с указанием пределов просмотра	Патентная документация, наименование патентного бюллетня, журналов, номера и даты их публикации указанием пределов просмотра
1	2	3	4	5	6
Способы переработки мясного сырья пониженной биологической ценности	Казахстан, РоссияСНГ	637.5	Павлодарский филиал РНТБ, научная библиотека ИнЕУ, электронная база ФИПС ( <a href="http://www.fips.ru">www.fips.ru</a> ), Казпатент ( <a href="http://www.kazpatent.kz">www.kazpatent.kz</a> ),	Журнал «Мясная индустрия». – М. (1999-2005). Обзорная информация. Серия «Мясная промышленность».-М.: АгроИИИТЭИМИ;	Офиц. бюлл. «Промышленная собственность» - Алматы: Казпатент (1993-1996). Офиц. бюлл. «Открытия, изобретения». – М.: ВНИИПИ (1986-1991). Офиц. бюлл. «Изобретения». М.: НИО «Поиск» (1992-2005). Реф. информ. «Изобретения стран мира». Вып. 100 (МКИ А23С 19/076).- М.: ВНИИТИ (1986-1991).  Реф. информ. Изобретения стран мира». Вып. 100 (МКИ А22С11).- М.: ВНИИТИ (1992-1996). Реф. информ. «Изобретения за

рубежом».- М.:  
ВНИИПИ.

Раздел 2. Патентная документация, изученная в ходе проведения патентного поиска и содержащая аналоги (Таблица 3)

Таблица 3

Предмет Поиска (объект, его составные части)	Страна выдачи, вид и номер охранного документа, классификационный индекс	Выявленные аналоги		Заключение о целесообразности использования технического решения
		Заявитель с указанием страны, номер заявки, дата приоритета, конвенционный приоритет, дата публикации	Сущность заявленного технологического /технического/ решения и цели его создания ( по описанию изобретения, полезной модели к патенту или опубликованной заявке), включая название изобретения и/или полезной модели и/или приведением чертежей в виде приложения к отчету о поиске	
Способы переработки	Российская Федерация. Патент № 2311035, А 23В4/023 А 23L 1/31	Государственное образовательное учреждение высшего профессионального образо-	Способ приготовления рассола- закваски для производства сырокопченых и сыровяленых	возможно

<p>мяс-ного сырья пониженной биологической ценности</p>		<p>вания Воронежская государственная технологическая академия, РФ, 27.11.2007</p>	<p>продуктов, предусматривающий последовательное растворение посолочных компонентов в воде и внесение в полученный рассол препарата стартовых культур, отличающийся тем, что в качестве стартовых культур используют препарат, состоящий из <i>Lactobacillus curvatus</i> и <i>Staphylococcus xylo-sus</i>, взятых в соотношении 1:1, в качестве посолочных компонентов используют обезжиренное сухое молоко или сухую молочную сыворотку, пищевую поваренную соль в количестве 2-3 % и нитрит натрия, рассол подвергают ферментации при температуре 30-35 °С в течение 8-12 ч до достижения кислотности 40-50 °Т (рН 5,5-6,0), а нитрит натрия вносят непосредственное перед инъектированием рассола в продукт.</p>	
<p>Способы переработки мяс-</p>	<p>Российская Федерация. Патент № 2095990 A22 C 11/0</p>	<p>Всероссийский научно-исследовательский институт мясной промышленности</p>	<p>Способ производства сырокопченых колбас, предусматривающий приготовление фарша с внесением в него</p>	<p>возможно</p>

ного сырья пониженной биологической ценностью			<p>бактериальной смеси, влияющей на процесс созревания, состоящей из молочнокислых бактерий вида <i>Lactobacillus plantarum</i> и денитрифицирующих микрококков, термообработку и сушку, отличающийся тем, что из молочнокислых бактерий используют штамм <i>Lactobacillus plantarum</i> (ГНЦА № 2164) и дополнительный штамм <i>Lactobacillus casei</i> (ГНЦА № 2163), из денитрифицирующих микрококков штамм <i>Micrococcus varians</i> (ГНЦА № 2165) при соотношении их в смеси 1:1:1, при этом бактериальную смесь вводят в количестве 0,035-0,05 % от массы фарша. В качестве одного из видов мясного сырья используют говядину I сорта</p>	
Способы переработки мясного сырья пониженной	<p>Республика Казахстан Предварительный патент № 14251 А 23 I.1/31, С12N 9/00</p>	<p>Локтионова В.С., Чоманов У.Ч., Алимарданова М.К.</p>	<p>Способ обработки мясного сырья для производства продуктов диетического и лечебно-профилактического питания, предусматривающий его измельчение и перемешивание с раствором, содержа-</p>	возможно

био- логи- чес- кой цен- ности			<p>щим посолочные ингредиенты, ферментный препарат и жировой компонент с высоким содержанием полиненасыщенных жирных кислот, относящихся к группе W3, отличающийся тем, что в качестве мясного сырья используют мясо конины, а в качестве ферментного препарата – раствор трипсина, полученный из поджелудочной железы крупного рогатого скота, который вносят в измельченное мясо, при этом количество ферментного препарата составляет 0,1 % к массе обрабатываемого сырья, затем проводят автолитическую выдержку, после которой ферментированное сырье перемешивают с раствором, содержащим посолочные ингредиенты и жировой компонент с высоким содержанием полиненасыщенных жирных кислот, относящихся к группе W3, при этом количество жирового компонента состав-</p>
---	--	--	---

			ляет 15,0-19,0 % к массе соединительнотканного белка обрабатываемого сырья.	
Способы переработки мясного сырья пониженной биологической ценности	Российская Федерация. Патент № 2305943 A22 C 11/00	Открытое акционерное общество «Новосибирский мясоконсервный комбинат»	Способ производства колбасных изделий, включающий подготовку сырья, приготовление фарша с введением бактериальных культур, формование и термическую обработку, включая осадку и поэтапное копчение. В качестве бактериальной культуры используют стартовую культуру Битек ЛКБ-5 Арт 825/10	возможно

Раздел 3. Научно-техническая литература, изученная в ходе проведения патентного поиска и содержащая аналоги (Таблица 4)

Таблица 4

Предмет поиска (объект, его составные части)	Выявленные аналоги		
	Авторы, наименование источника информации	Место и орган издания, год, выпуск, том, страница	Сущность технологического /технического/ решения и цели его создания ( по описанию изобретения, полезной модели в данном источнике информации), включая название и/или приведением чертежей в виде приложения к отчету о поиске
Способы переработки мясно-	Антипова Л.В. Влияние ферментативной обработки на гистострукту-	Мясная индустрия. - 2005. - №1. - С.19-21	Для определения влияния выбранной концентрации ферментного препарата коллагеназы на мышечные и соединительные ткани, а также рекомендованной продолжительности обработки ко-

<p>го сы- рья по- нижен- ной биоло- гиче- ской ценно- сти</p>	<p>ру и функ- ционально- технологиче- ские свойства конины</p>	<p>нины были проведены гистологиче- ские исследования согласно рекомен- дациям. Результаты гистологических исследований показали, что значитель- ные изменения гистоструктуры кони- ны происходили к 3-4 часам обработки ферментным препаратом коллагеназы. Под влиянием ферментного препарата мышечные волокна набухали, вокруг них соединительнотканые оболочки также выглядели набухшими и вплот- ную прилегали к ним.</p>
---	--	---

## Введение

Разрешение вопросов рационального использования сырья с высоким содержанием соединительной ткани на сегодняшний день является актуальным и связано с дальнейшим изучением свойств и способов его обработки. Однако, переработка такого рода сырья сопровождается рядом трудностей технологического характера.

За последние годы получили широкое развитие производство и применение биологически активных веществ, основанные на использовании животных тканей растений и микроорганизмов. Биотехнологические методы обработки сырья мясной отрасли связаны с созданием прогрессивных технологий, в основном реализуемых в виде целенаправленного использования ферментных систем, бактериальных заквасок и препаратов.

Отечественный и мировой опыт свидетельствуют о целесообразности применения ферментов, бактериальных заквасок и препаратов, обеспечивающих ускорение процессов созревания и мягчения мяса, получение высококачественных биологически полноценных гидролизатов и продуктов питания.

Применение ферментов, бактериальных заквасок и препаратов приводит к значительному повышению биологической и технологической функциональности мясного сырья пониженной биологической ценности, позволяя улучшить свойства и выход продуктов за счет изменения структуры белков и трансформации свойств сложных биологических систем в получении мясопродуктов.

Целью магистерской диссертации является изучение различных способов обработки мясного сырья пониженной биологической ценности.

Задачи исследования:

1 Определить основные тенденции в развитии технологии переработки мясного сырья пониженной биологической ценности.

2 Изучить традиционные и современные методы обработки мясного сырья пониженной биологической ценности.

3 Определить пути совершенствования технологии обработки мясного сырья пониженной биологической ценности.

4 Изучить влияние бактериальных культур и ферментных препаратов на функционально-технологические свойства мясного сырья.

## **1 Ферментные препараты, стабилизация и методы контроля за распределением ферментов**

### **1.1 Активаторы натуральных протеолитических ферментов**

Преимущество предубойной инъекции протеолитических ферментов в том, что они равномерно распределяются по сосудистой системе до убоя и, следовательно, способствуют обеспечению более однородной нежности мяса. Но в то же время этот способ относительно дорог вследствие высокой стоимости используемых ферментов.

Вместо протеолитических ферментов предложено инъецировать перед убоем в сосудистую систему животного некоторые вещества, способные активировать естественно присутствующие в организме животного протеолитические ферменты. Активаторы повышают активность натуральных протеолитических ферментов, в результате чего они скорее разрушают фиброзный материал и тем самым размягчают мясо. Раствор активатора лучше всего вводить за 15–30 мин до убоя. Активатор за этот относительно короткий период времени может активировать протеолитические ферменты в необходимой для заметного размягчения мяса степени.

Активатором может быть любое вещество, способное активировать протеолитические ферменты, т. е. ферменты, которые гидролизуют белки. К ним относятся панкреатин, фицин, папаин, бромелин, грибковые и бактериальные протеазы и катепсин. Активаторы обычно относят к классу редуцирующих соединений, это могут быть гидросульфид, гидросульфит, сульфид, сульфит, бисульфит, тиосульфат натрия, глутатион, цистеин, цистеингидрохлорид, метионин, тиоуксусная кислота, тиомолочная кислота, тиобензойная кислота, тиояблочная кислота, тиогликолат натрия, тиоглицерин, бензилмеркаптан, *n*-бутилмеркаптан, 2-диэтиламиноэтанол, этилтиогликолат, 3-меркаптопропионовая кислота, метоксиэтилтиогликолат, *o*-меркаптобензойная кислота, дитиозритритол, гликольдимеркаптоацетат, пентаэритритолтетра (3-меркаптопропионат), пентаэритритолтетратиогликолат, гликольдимеркаптопропионат и их смеси. Другие щелочные металлы, например калий, можно использовать вместо натрия в перечисленных выше соединениях. Кроме того, активатором панкреатина может быть сульфат аммония. Считают, что активаторы «открывают» SH-группы в молекуле фермента. Раствор активатора инъецируют животному за 5–120 мин до убоя (как правило, за 15–30 мин). За это время активатор равномерно распределяется по сосудистой системе животного и способен активировать естественно присутствующие в тканях протеолитические ферменты.

Концентрация активатора в растворе не является решающим фактором – раствор может быть очень разбавленным и относительно концентрированным. Содержание активатора в растворе частично зависит от массы животного и вида активатора. Обычно инъецируемая доза активатора равна 5–10 г на 453 кг живой массы (оптимальная доза 10–20 г). При дозе ниже 5 г увеличение нежности мяса очень незначительное, а выше 100 г также не наблюдается дополнительного размягчающего эффекта.

После убоя животного производят обескровливание традиционными способами, не допускающими большой концентрации активатора в крупных кровеносных сосудах. На стадии обескровливания кровь удаляется из мелких сосудов, т. е. мелких вен, артерий и капилляров, очень незначительно, и в них остается много крови, содержащей ферментные активаторы.

Наибольшее размягчение достигается в том случае, если мясо после убоя охлаждают в течение 4–7 суток перед замораживанием. Этот период созревания способствует лучшему размягчению, поскольку активатор воздействует на протеолитические ферменты в течение дополнительного периода времени, а ферменты в свою очередь разрушают фиброзные ткани и повышают нежность мяса, прошедшего тепловую обработку.

## **1.2 Коллаген разрушающие вещества**

Типичным для предубойной обработки является инъекция протеолитических ферментов животному перед убоем. Однако в этом есть недостаток: клетки мышц обработанных животных разрушаются в процессе инъекции а, следовательно, качество их мяса снижается.

Метод предубойного размягчения мяса основан на введении в организм животного перед убоем вещества, расщепляющего коллаген (т.е. разрушающего коллаген или ингибирующего его образование, но не влияющего на мышечные клетки), которое усваивается организмом.

Через определенное время животное убивают, а тушу разделяют и получают нежное мясо. Коллагенразрушающим может быть вещество типа латирогена или антагониста цистеина. Латирогенное вещество разрушает коллаген, а антагонист цистеина задерживает образование коллагена. Учитывая, что коллаген – это волокно, которое обуславливает когезивность тканей а, следовательно, и жесткость мяса, в обоих случаях эти вещества размягчают мясо.

Латирогены и антагонисты цистеина представляют собой мелкие молекулы в отличие, например, от ферментов – крупных белковых молекул. Когда небольшие молекулы латирогена или антагониста цистеина инъецируют животному перед убоем, они распространяются по всему телу и разрушают или ингибируют образование коллагена, но не атакуют мышечные клетки. Многие вещества обладают латирогенными свойствами; в качестве примера можно привести следующие: бета-аминопропионитрил, ацетиламинонитрилбисульфат, аминоантипириинхлорово-цорол, 1-бензил-1-фенилгидразин-хлороводород, семикарбазид-хлороводород, 4-фенил-3-тиосемикарбазид, тиосемикарбазид, 1-метил-1-фенилгидразин, фенилгидразин.

Цистеиновыми антагонистами являются многие вещества наиболее желательным представляется пеницилламин.

При практическом осуществлении этого метода необходимо лишь, чтобы коллаген разрушающее вещество было введено за такой период до убоя, который обеспечил бы его усвоение организмом. Дозировку и режим инъекции можно менять в зависимости от желаемого результата, вида и габаритов животного.

Небольшие дозы (несколько сотых грамма на 1 кг живой массы) можно инъецировать на протяжении нескольких недель. С другой стороны, более высокие дозы можно ввести лишь несколько раз, а иногда и один.

В случае надобности эффективность любого коллаген разрушающего вещества можно регулировать в процессе инъецирования, например, эффективность латирогена посредством определения содержания аминокислот в моче опытных животных. Коллаген распадается на ряд аминокислот, а две из них – пролин и оксипролин – обнаруживаются в большом количестве только в нем. Следовательно, количество пролина и оксипролина в моче обрабатываемых животных пропорционально количеству коллагена, катаболизированного под влиянием латирогена.

Измеряя содержание этих аминокислот в моче, можно выбрать дозировку и вид латирогена, наиболее подходящие для данного вида и размеров животного.

Инъекции проводят внутримышечно, но можно и внутривенно, подкожно или парентерально. Эффективно также и оральное введение, причем в этом случае латироген лучше смешивать с водой или кормом.

Пример 1. 500 г бета-аминопропионитрила вводили бычку категории «ютнлти» пастбищного откорма в течение семи дней внутримышечно в виде 7 равных доз с помощью гиподермического шприца. Животное весило 181 кг. Через день после введения последней, седьмой, дозы животное убили. Мясо, полученное при разделке туши, было аналогичным мясу контрольного животного такой же массы, такого же метода откорма и такой же категории. Мясо опытного бычка оказалось гораздо нежнее.

Пример 2. Все было сделано так же, как в примере 1, но использовали пеницилламин, доза составляла 5 г в день при периоде обработки 7 дней. Результаты были аналогичными полученным в предыдущем примере.

### **1.3 Контроль распределения ферментов**

Разработан усовершенствованный способ предубойной обработки животных протеолитическими ферментами, который заключается в быстром введении протеолитических ферментов в сосудистую систему живых животных и убой их после этого. Таким образом, можно обеспечить равномерное распределение ферментов по сосудистой системе и сообщить достаточное количество ферментов мышечной и другим тканям, гарантируя, что отрубы мяса туш таких животных будут нежнее после тепловой обработки. Не допускается концентрирования ферментов в железистых органах с высокоразвитой сосудистой системой, например в печени или почках.

Ферменты инъецируют любыми средствами, обеспечивающими их введение в сосудистую систему живого животного. Овцам рекомендуется инъецировать ферменты в жидком носителе в яремную вену иглой, соединенной трубкой с баллоном, откуда фермент поступает самотеком. Так же можно делать инъекции крупному рогатому скоту, телятам, телкам, свиньям и т. д. Для птицы обычно используют шприц для подкожных впрыскиваний и производят инъецирование в одну из вен, например плечевую или внутреннюю плюсневую. По-

ток фермента может быть гравитационным или под давлением, чтобы ускорить процесс инъекирования.

Концентрация фермента в растворе должна быть достаточной, чтобы введение этого раствора, рассчитанного на одно животное, было непродолжительным. Этому требованию вполне удовлетворяет концентрация от 500 до 14000 ед. тирозина на 1 мл для протеолитических ферментов растительного происхождения – папаина, фицина и бромелина и их смесей. Для одного животного массой 362–498 кг потребуется 80–385 мл такого раствора, это количество можно ввести за 16–77 с гравитационно с помощью современного оборудования (игольчатых приборов с датчиками и др.).

Более разбавленные растворы (концентрацией 500 ед. тирозина на 1 мл) необходимо вводить в дозе 0,44–1,54 мл/кг, т. е. для среднего животного требуется 160–770 мл раствора, для инъекции за 32–154 с. Поскольку такие инъекции длительны, их рекомендуется проводить только под давлением. При использовании более концентрированных растворов (5000 ед. тирозина на 1 мл) доза инъекции должна составлять 0,044–0,154 мл/кг, а общее количество инъекируемого раствора – 16–77 мл, которые можно ввести за 3–16 с. Измерение концентрации фермента и его дозирование при инъекции требуют в этом случае большего внимания.

Желательнее использовать раствор папаина, имеющий активность 3000 ед. тирозина на 1 мл; его можно вводить крупному рогатому скоту в количестве 27–128 мл за 5–26 с. Для более мелких животных требуется меньший объем раствора, пропорционально сокращается и продолжительность инъекции. Оптимальным для крупных животных, например, крупного рогатого скота, является водный раствор фермента активностью 5000 ед. тирозина на 1 мл. Этот раствор разбавляют водой до постоянного объема 80–100 мл, его можно вводить очень быстро.

Общее время между инъекцией фермента и убоем животного не должно превышать 60 % времени, необходимого для одного цикла работы сердечно-сосудистой системы животного. Для более крупных животных, например крупного рогатого скота, этот период длительнее, чем для овец. Цикл циркуляции крови у крупного рогатого скота составляет около 50–56, у овец – 27–33, у телят – 5–10, а у свиней – 10–15 с. У птицы, например крупных петухов и индеек, один цикл занимает 2–3 с.

Для обработки скота желательно применять специальное оборудование. Можно применять простые ограничители, чтобы свести до минимума движения животных во время инъекции и убоя, практиковать иммобилизацию животных. Очень подходящие в этом отношении химические методы обездвиживания. Химические релаксанты, например препараты для расслабления мышц можно вводить путем местной абсорбции или ингаляции. Некоторые химические релаксанты эффективны при пероральном введении. Доза релаксанта должна обеспечить ингибирование движений животного и потери скелетными мышцами рефлекторной активности.

Животных, обработанных мышечным релаксантом, можно обескровливать после подвешивания на рельс или в горизонтальном положении до окон-

чания действия препарата, так как сублетальные дозы его не нарушают сердечной деятельности. Рекомендуется применять холингалиды янтарной кислоты, особенно дихлориды, поскольку они быстро гидролизуются на два нетоксичных соединения в тканях животного. Холиндихлорид янтарной кислоты для внутривенного вливания можно получить, приготовив слабый раствор, содержащий 2 мг холиндихлорида янтарной кислоты в 1 см куб, воды, а для внутримышечной или внутрибрюшинной инъекции – раствор, содержащий около 20 мг в 1 см куб воды. Используемая доза зависит от метода введения релаксанта (инъекция, абсорбция, ингаляция и т. д.) и размера животного.

Для внутривенных вливаний овцам требуется от 0,198 до 0,330 мг/кг живой массы, а для такой же степени иммобилизации крупного рогатого скота – половина этого количества. В некоторых случаях желателно анестезировать животных до, и после введения фермента. Лишить животных чувствительности можно механическим оглушением, электрооглушением либо электрической, химической или газовой ( $\text{CO}_2 + \text{O}_2$  или  $\text{CO}_2$ ) анестезией.

Любой из указанных способов лишает животных чувствительности, и фермент можно инъецировать до или вскоре после этого. При применении механического оглушения до инъекции фермента рекомендуется 2–3-минутная задержка между оглушением и инъекцией, чтобы стабилизировалась сердечная деятельность. Авторы изобретения рекомендуют провести иммобилизацию мышечным релаксантом с последующей электро или газовой анестезией, инъецировать фермент и, наконец, убить животное.

#### **1.4 Обработанный и стандартный ферментный раствор**

Перед убоем животных обрабатывают растворами протеолитических ферментов, чтобы получить туши и отрубы мяса, характеризующиеся повышенной нежностью после тепловой обработки. Существующий способ приготовления ферментов для этого процесса был усовершенствован и в результате позволяет стандартизировать фермент и контролировать его размягчающее действие посредством предварительной обработки перед инъецированием, а также регулировать активность фермента и количество фермента определенной активности, подлежащее инъецированию.

Сырой папаин, фицин и бромелин содержат некоторое количество ферментных веществ, активных при температурах обычной тепловой обработки мясородуктов, а также ферментных веществ, активных при более низких температурах и способных оказать неблагоприятное влияние на процессы в организме животного. От предубойной обработки ожидают удовлетворительного размягчения при минимуме отрицательных физиологических реакций в организме животных. Однако степень размягчения и недопущение физиологических реакций обусловлены в значительной степени свойствами фермента.

Разработан способ обработки сырых ферментов с целью выработки ферментных препаратов, высокоактивных при повышенных температурах и малоактивных при температуре тела животных.

Обычно фермент получают из растительного сырья, он обладает протеолитической активностью в 40000–200000 тирозиновых единиц на 1 г. В раство-

ре он должен иметь активность, по крайней мере 250–500 тирозиновых единиц на 1 мл и соотношение тирозиновой и общей молоко свертывающей активности в 1 мл, равное 55:100, а также обладать удовлетворительной тканевой специфичностью при 60–98,9 градусов. Другой характеристикой ферментных растворов является то, что активность, выраженная через соотношение тирозиновых единиц и свободных молоко свертывающих единиц в 1 мл, превышает 200, а предпочтительно – 333. Ферментами растительного происхождения, наиболее пригодными для данной цели и обладающими нужными характеристиками, являются папаин, фицин и бромелин.

Активность протеолитического фермента, выраженная через единицы тирозина, служит показателем размягчающего действия фермента. Поскольку это определение проводят при повышенной температуре, оно указывает на потенциальный размягчающий эффект при такой же температуре. Молоко свертывающие единицы являются выражением активности фермента при 40 градусов и хорошим показателем активности примерно при температуре тела животного. Таким образом, это хороший показатель вероятности неблагоприятных физиологических реакций под воздействием фермента при температуре тела. Соответственно активность, представленная единицами тирозина (в идеальной ситуации), должна быть высокой, а активность, представленная молоко свертывающими единицами – как общими, так и свободными, – низкой относительно тирозиновой активности. Соотношение активности в единицах тирозина и активности, выраженной в общих и свободных молоко свертывающих единицах, является показателем мясо размягчающей активности фермента, а также вероятности его неблагоприятного влияния на физиологические процессы в организме животного.

Для получения наилучших результатов желательно, чтобы фермент был взвешен в воде в концентрации, достаточной для обеспечения примерно 1000 ед. тирозина на 1 мл. Это позволяет вводить раствор в количестве около 0,22–0,77 мл на 1 кг живой массы животного. Для среднего животного живой массой 362–453 кг общее требуемое количество раствора в таком случае составляет 176–847 мл, оно может быть инъецировано за 16–77 сек. Более слабые растворы (500 ед. тирозина на 1 мл) следует вводить в количестве 0,44–1,54 мл на 1 кг, для среднего животного потребуется около 160–770 мл раствора. При использовании более концентрированных растворов (около 5000 ед. тирозина на 1 мл) необходимо инъецировать лишь 0,044–0,154 мл/кг, а общее требуемое количество 16–77 мл можно ввести за 3–16 сек. Однако в этом случае следует более точно проводить инъекции. Активность в молоко свертывающих и тирозиновых единицах для любого данного фермента можно определить следующим образом.

**Молоко свертывающий тест. Общая активность.** 200 г фермента в порошке, например, папаина, смешивают с 200 г химически чистого глицерина до образования пасты, которую растворяют в дистиллированной воде, а раствор разбавляют до объема 10000 мл pH раствора доводят до 7,4 с помощью 5 г. раствора NaOH и добавляют 100 г. NaCl.

После фильтрации раствор используют в молоко свертывающем тесте. Для определения общей активности 10 мл ферментного раствора смешивают с 10 мл водного раствора 0,2М цистеингидрохлорида – 0,01М версена, величина рН которого предварительно доведена до 6,0. Смесь выдерживают 10 мин, затем разбавляют до 100 мл деионизированной водой. После инкубирования при 40 градусов в течение 5 мин ферментный препарат готов к употреблению.

Субстрат готовят, смешивая 80 г. сухого обезжиренного молока, высушенного распылением при низкой температуре, с 290 мл деионизированной воды, содержащей 50 мл 0,1М цистеингидрохлорида – 0,01М версена (величина рН этой смеси предварительно доведена до 6,0) и 6 мл 4М хлористого кальция. Этот раствор субстрата тоже инкубируют при 40 градусов в течение 30 мин. 5 мл субстрата из обезжиренного сухого молока помещают в пробирку, добавляют 1 мл ферментного раствора и смесь нагревают при 40 градусов до свертывания молока. Продолжительность свертывания пропорциональна активности фермента.

Свободная молокосвертывающая активность. Ферментный раствор готовят, как для теста на общую активность, но без добавления цистеинверсена и инкубируют при 40 градусов в течение 5 мин перед смешиванием с субстратом. Субстрат готовят из 80 г сухого обрата, 360 мл деионизированной воды и 6 мл 4М хлористого кальция. 5 мл субстрата помещают в пробирку и термостатируют при 40 градусов в течение 30 мин перед употреблением. Как и при определении общей активности, 1 мл ферментного раствора инкубируют с 5 мл субстрата и отмечают время свертывания.

**Тест на тирозиновую активность.** Субстрат готовят, смешивая 100 г постной измельченной говядины и 300 г воды в смесителе Варинга в течение 6 мин. 20-граммовые образцы этой эмульсии помещают в 12 колб. Ферментный раствор следует разбавить водой, чтобы он обладал общей активностью 10–30 молоко свертывающих единиц на 1 мл. 5 мл такого разбавленного раствора еще раз разводят деионизированной водой до 4000 мл. Этот раствор вводят в количестве 0–5 мл в колбы с субстратом. Для каждой добавляемой дозы должно быть предусмотрено по две колбы. После этого колбы встряхивают, чтобы перемешать содержимое, и термостатируют при 80 градусов в течение 1 ч. К этому времени останавливают реакцию, добавляя 40 мл 20%-ной водной трихлоруксусной кислоты в колбу и встряхивая ее.

Образуется осадок. Колбу выдерживают 30 мин при комнатной температуре для завершения реакции. Содержимое разбавляют до 200 мл дистиллированной водой и после тщательного перемешивания суспензию фильтруют. Для определения цвета тирозина берут по 2 мл фильтрата из каждой колбы. К ним добавляют 8 мл 0,25N серной кислоты, 5 мл 20%-ного водного карбоната натрия и 1 мл фенольного реагента Фолен-Сиокальто, после чего выдерживают 30 мин, а затем на растворе проводят измерения в сравнении с дистиллированной водой (контроль) с помощью спектрофотометра при 540 нм. Степень фенольной окраски определяют, сравнивая светопропускание опытных образцов и аналогично обработанных стандартов, содержащих 0, 40, 60 и 80 мкг тирозина в каждой пробирке.

При приготовлении ферментного раствора сухой фермент в порошке смешивают с равным количеством глицерина, смесь взвешивают в воде и определяют активность в тирозиновых единицах, а также общую и свободную активность в молоко свертывающих единицах. Последнюю можно уменьшить обратимой инактивацией ферментного раствора или фракционированием фермента водо-смешиваемым растворителем, в котором фермент не растворяется, например ацетоном, диоксаном или низшими алкиловыми спиртами. Пригодными считаются метанол, этанол, пропанол, изопропанол, третичный бутанол, этиленгликоль и метилэтилкетон. Другим способом уменьшения свободной молоко свертывающей активности является солевое фракционирование хлористым натрием, сернокислым натрием, моно кислым фосфатом натрия, моно кислым фосфатом калия, хлористым калием, сульфатом аммония или другими соответствующими солями.

Концентрацию фермента в растворе регулируют так, чтобы инъецировать достаточное количество раствора и обеспечить около 55–1100 тирозиновых единиц на 1 кг живой массы животного. Хотя рекомендуется инъецировать примерно 220–880 тирозиновых единиц на 1 кг, очень хорошие результаты получают и при введении 110–880 ед. Можно приготовить ферментные растворы, имеющие желательные характеристики, из смеси папаина и бромелина.

Пример. Промышленный сырой измельченный папаин (150 г) перемешивали до образования пасты с химически чистым глицерином (150 г) и растворяли в 2000 мл дистиллированной воды. рН раствора доводили до 7,4 с помощью водного раствора NaOH и выдерживали при этом рН в течение 30 мин. Затем доводили рН раствора до 3,5 и добавляли 685 г хлористого натрия, после чего охлаждали раствор до 10 градусов. Образующийся осадок собирали центрифугированием и растворяли в 2260 мл дистиллированной воды при рН 7,4. Раствор осветляли и стерилизовали фильтрацией через фильтр Зейтца, задерживающий бактерии. Простерилизованный раствор инъецировали животным в указанных ранее дозах.

NaCl – фракционированный раствор, имел активность 611 тирозиновых единиц, общая молоко свертывающая активность равнялась 9,8 ед., а свободная – 0,2 ед. на 1 мл. Соотношения тирозиновых, общих и свободных молоко свертывающих единиц составляли 63 и 3050 (соответственно). Обработанный препарат в дозе примерно до 1,54 мл/кг не вызывал заметных неблагоприятных физиологических реакций, при осмотре туш не выявлено существенных дефектов. Бифштексы, отбивные и жаркое из мяса таких туш получали на квалифицированной дегустации оценку 8 баллов или выше за нежность (по 10-балльной шкале: 1 – неудовлетворительная нежность, 10 – превосходная). Сырой, необработанный препарат, с другой стороны, вызывал депрессию и учащенное дыхание при дозе 0,33 мл/кг или выше. Кроме того, при таких дозах наблюдали кровоизлияния в лимфоузлах средостения и в печени.

### **1.5. Обратимо инактивированные ферменты**

Инъекция фермента животному часто служит причиной внутренних кровоизлияний и отеков внутренних органов. В результате тушу забраковывают.

Обычно считали, что неблагоприятные физиологические реакции в живом организме были главным образом связаны с наличием некоторых нежелательных компонентов (примесей) в ферменте промышленного производства.

Однако обнаружили, что при инъекции протеолитических ферментов реакция животного, возможно, связана только с активным ферментом *per se*, т.е., когда ферменты очищены и затем активированы, они служат причиной резкой реакции в организме. Хотя большая часть не ферментного белка и низкомолекулярных соединений удалена, очищенный активный фермент дает такую же резкую реакцию, как и сырой. Следовательно, никакая очистка активного фермента не устранит реакции животного.

Способ заключается в обработке сульфгидрильной протеазы, хранившейся при низкой температуре (рН 6–12), одним или несколькими дисульфидными реагентами, которые обратимо инактивируют активную фракцию фермента. После этого обратимо инактивированный фермент можно инъектировать скоту перед убоем. Данный способ предназначен для сульфгидрильных протеаз, т.е. протеаз, которым для каталитической активности нужна сульфгидрильная группа, и особенно для сульфгидрильных протеаз растительного происхождения – папаина, бромелина и фицина. Порошкообразные препараты промышленного производства, полученные из этих ферментов, содержат смесь сульфгидрильных протеаз. Например, в промышленном папаине имеются чистый фермент папаин и два или более химопапаиновых фермента. Кроме растительных сульфгидрильных протеаз этот способ распространяется и на микробильные сульфгидрильные протеазы, например стрептококковую протеиназу и клострициин, а также на сульфгидрильные протеазы животного происхождения, например катепсин С.

Порошкообразные ферменты ницевой категории промышленного производства содержат смеси активных, обратимо инактивированных и необратимо инактивированных молекул ферментов. Соотношение этих трех видов молекул неодинаково в различных партиях фермента.

Активные молекулы фермента приводят к размягчению мяса вследствие протеолиза, но они же могут вызвать резкие физиологические реакции у животных после инъекции. Например, инъекция растворов сырых ферментов папаина, бромелина или фицина или их комбинаций, содержащих значительное количество активных молекул, в кровеносные сосуды дает такие симптомы, как затрудненное дыхание, носовая гиперемия, депрессия, появление пены у рта, а в некоторых случаях животные становятся синопными и умирают. Аутопсия обычно выявляет при этом кровоизлияния в почках, сердце, печени, кишечнике, желчном пузыре и гортани. В результате государственная инспекция бракует такие туши. Полноактивные ферменты могут вызвать очень быструю смерть животного.

Необратимо инактивированные молекулы – это те, которые вследствие окисления, гидролиза и т.д. активных молекул перманентно теряют активность, по крайней мере, в условиях предубойной инъекции ферментного раствора и, следовательно, не дают эффекта размягчения или реакции животного. Обратимо инактивированные молекулы не приводят к размягчению мяса и не

вызывают отрицательных реакций при введении в кровеносные сосуды. Однако они могут восстановить свою активность в сосудистой системе животного, а потом оказать на мясо размягчающее действие. Следовательно, желательно, чтобы при предубойных инъекциях в сосудистую систему вводили раствор фермента, содержащий возможно больше молекул обратимо инактивированного фермента. Так сказать, проблема предотвращения реакции животного заключается в обратимой инактивации активных молекул фермента таким образом, что фермент является инактивированным в момент инъекции и до убоя, либо реактивируется медленно в организме животного и легко переносится им.

Чтобы получить действительно эффективные ферментные препараты для предубойных инъекций, инактивирующий реагент должен отвечать следующим требованиям:

- 1) обратимо инактивировать протеолитический фермент так, чтобы он был неактивным в момент инъекции;
- 2) дать модифицированный фермент, который реактивируется *in situ* с такой скоростью, что в период между инъекцией и убоем фермент не восстанавливает своей активности и не вызывает отрицательных физиологических реакций; размягчающая активность восстанавливается в период между убоем животного и потреблением мяса;
- 3) должен быть не токсичным для человека в тех количествах, которые присутствуют в размягченном мясе.

Несколько низкомолекулярных симметричных дисульфидных соединений отвечают этим трем требованиям и, следовательно, пригодны при предубойных инъекциях протеолитических ферментов. Кроме тетрагидрата натрия к таким соединениям относятся: 2-оксипропандисульфид, бис-(В, у-диоксипропил) дисульфид, дитиодиопропанол, 6,6-дитиодиникотиновая кислота, тетраметилурамдисульфид, цистин, тиаминдисульфид, дисульфид чесночного сока, окисленный глутатион и их смеси. Кроме этих дисульфидов некоторые сульфгидрильные соединения, которые обычно считаются активаторами ферментов, можно применять для обратимой инактивации сульфгидрильных протеаз.

Соответствующие сульфгидрильные соединения включают меркаптоэтанол, цистеин и тиоглицерол. Когда их добавляют в раствор фермента, они претерпевают окисление под влиянием воздуха в течение нескольких часов с образованием их дисульфидных димеров. Уровень активности выбирают так, что окисление завершается за приемлемый период времени. Соответственно, меркаптоэтанол окисляется до 2-оксипропандисульфида, тиоглицерол до бис-(В, у-диоксипропил) дисульфида, цистеин до цистина и т. д. Продуктом дисульфидного окисления является соединение, которое фактически обратимо инактивирует протеолитические ферменты. Конечно, сульфгидрильное соединение можно было бы окислить до его дисульфидной формы до добавления в раствор фермента.

Названные выше соединения обратимо инактивируют сульфгидрильные протеазы; однако некоторые дисульфидные соединения могут быть более эффективными при использовании в сочетании с каким-то определенным ферментом, т. е. скорость инактивации или реактивации того или иного протеоли-

тического фермента под влиянием любого данного дисульфидного инактиватора может быть неодинаковой. Так было обнаружено, что скорость реактивации папаина обычно меньше, чем бромелина. Например, 2-оксиэтил-дисульфид инактивирует и бромелаин, и папаин, но при использовании 1 М глутатиона в качестве активатора за 10 мин реактивация происходит на 9,2% для бромелина и менее чем на 1% для чистого папаина. Реакция сульфгидральных протеаз с симметричными дисульфидными соединениями протекает по следующему уравнению:



где

*ESH* – активный сульфгидрильный фермент (например, папаин, бромелин или фицин);

*RSSR* – симметричный дисульфидный инактиватор;

*ESSR* – обратимо инактивированный фермент (смешанный дисульфидный или сульфгидрильный фермент);

*RSH* – низкомолекулярное тиоловое соединение, образовавшееся во время реакции.

Реакция лучше всего протекает при нейтральном или щелочном pH. Вероятно, протеолитический фермент (*ESH*) надо ионизировать (*ES<sup>-</sup>*) перед началом реакции. Реакцию можно довести до завершения окислением тиола (*RSH*) до дисульфидной формы воздухом или другими окислителями. Этот тип реакции обычно протекает при низких температурах (на ледяной бане) и практически не дает побочных реакций. Следовательно, выход обратимо инактивированного фермента (*ESSR*) приближается к 100%.

Исходная стадия процесса заключается в приготовлении суспензии или раствора протеолитического фермента. Можно использовать сырые ферменты, ферменты пищевой категории или относительно чистые ферменты. Обычно берут ферменты пищевой категории, поскольку сырые ферменты содержат много нежелательных примесей, а чистые дороги. Реакцию можно инициировать, добавив дисульфидный инактиватор к пастообразной суспензии, приготовленной путем смешивания приблизительно одинаковых количеств глицерина и фермента, затем к суспензии добавляют холодную воду и получают раствор. Можно сделать и иначе: добавить дисульфидный инактиватор в водный раствор фермента либо ввести смесь дисульфидного инактиватора и порошкообразного фермента в воду и получить раствор. Конечный раствор может иметь концентрацию 0,25–25% (по весу), но предпочтительной является концентрация 2–10%.

Вследствие присутствия ионов тяжелых металлов в большинстве ферментных препаратов промышленного производства обычно надо добавлять такие вещества в раствор фермента, которые свяжут эти ионы, снизив их эффективную концентрацию. Эта стадия особенно важна в работе с сырыми ферментами в виде порошка, который содержит значительное количество посторонних

ионов металлов. Присутствие соответствующего связующего вещества, например солей этилендиаминтетрауксусной кислоты (ЭДТК), помогает обеспечить быструю инактивацию фермента. Связующими веществами могут быть также нитратные (например, нитрат натрия) и фосфатные соли (например, тетранатриевый пирофосфат, натрийтриполифосфат и натрийгексаметафосфат, а также нитрилотриуксусная, диэтилентриамин–пентауксусная и  $\text{N}$ -оксиэтиламинодиуксусная кислоты). Количество таких веществ, разумеется, будет зависеть от концентрации ионов тяжелых металлов в растворе фермента. Обычно оно равно 0,025–0,3 моля.

Суспензия или раствор фермента должны иметь соответствующую температуру и pH. Реакцию можно производить при 0–60 °С. Однако температура 60 °С может привести к необратимой инактивации активной фракции фермента. Поэтому предпочтительной является температура 0–25 °С, а лучше всего 0–5 °С. Низкая температура ингибирует бактериальный рост в ферментном растворе, тем самым сохраняя активность фермента. Величина pH рекомендуется в диапазоне 6–12, а лучше 7–9, чтобы произошла ионизация сульфгидрильного фермента до ES–формы.

В этом ионном состоянии фермент легко реагирует с дисульфидным реагентом, и образуется обратимо инактивированная дисульфидная смесь и сульфгидрильного фермента. Важно, чтобы pH ферментного раствора был доведен до нужного диапазона вскоре после приготовления раствора, во избежание нежелательных побочных реакций pH 10–12 обычно характерна только для растворов папаина.

Концентрация добавляемых инактивирующих дисульфидных соединений зависит от нескольких факторов, в том числе от концентрации фермента в растворе, используемого инактиватора, и концентрации неферментных соединений – активаторов, присутствующих в ферментном препарате. При таком количестве переменных необходимо экспериментально определять соотношение инактиватора и фермента, требуемое для завершения обратимой инактивации активной фракции фермента. Теоретически, 1 моль инактиватора реагирует с 1 моль фермента, образуя 1 моль дисульфидной смеси.

Однако промышленные порошки пищевой категории содержат неферментные сульфгидрильные компоненты и ионы металлов, которые частично используют инактиватор или снижают его эффективность. Поэтому было установлено, что для быстрой и практически полной инактивации промышленных порошкообразных ферментов молярное соотношение инактиватора и фермента должно составлять 1:100, а лучше 1:10. Более того, избыток дисульфидного инактиватора в растворе протеолитического фермента будет связывать присутствующий глутатион в крови животного, задерживая реактивацию фермента.

После обратимой инактивации активной фракции фермента в сосудистую систему животного перед убоем можно инъецировать раствор фермента. Следует помнить, что, с точки зрения контроля размягчения, важна потенциальная активность инъецируемого фермента. Было найдено, что в зависимости от вида животного и силы ферментного препарата необходимо вводить 0,22–330 мг

фермента на 1 кг живой массы животного; рекомендуемой дозой является 1,1–132 мг на 1 кг.

Животное должно поступить на убой примерно через 1 ч после инъекции. Если это произойдет вскоре после инъекции, то времени для равномерного распространения фермента в организме будет недостаточно. С другой стороны, если убой задерживается, не будет достигнута нужная степень размягчения. Обычно рекомендуется производить убой через 10–30 мин после инъекции.

Успех метода зависит от двух основных факторов: во-первых, фермент должен быть в обратимо неактивном состоянии в момент инъекции; во-вторых, скорость реактивации под влиянием восстановителей (в основном глутатиона) в крови должна быть достаточно низкой. Конечно, скорость реактивации частично зависит от уровня глутатиона в крови; чем он выше, тем реактивация быстрее. Известно, что уровень глутатиона неодинаков у различных особей и видов животных. Соответственно неодинакова и скорость реактивации. Есть несколько способов устранить этот фактор глутатиона в крови. Как упоминалось выше, избыток дисульфидного инактиватора в ферменте свяжет глутатион крови. Кроме того, инъекция окислительных или дисульфидных реагентов перед инъекцией фермента может снизить активирующую способность крови а, следовательно, и реакцию организма животного. Удовлетворительными веществами такого рода являются иодат или тетраионат калия, но есть и другие.

### **1.6 Распределение ферментов**

Наблюдается стойкая тенденция блокирования инъецируемых ферментов в капиллярах. Равномерного распределения ферментов добиться нельзя, поэтому большое скопление ферментов обнаруживают в бедренном и лопаточном отрубях, в результате мясо этих частей становится мягким, пористым и часто считается некондиционным. Эту проблему, типичную для предубойной инъекции протеолитических ферментов в жидком виде, решил Б.Е. Вилиам. Послеубойная инъекция воды, пока туша еще горячая и расслабленная и пока не завершился процесс *rigor mortis*, действует синергистически с ферментным раствором в мясе, обеспечивая равномерную тендеризацию мяса без чрезмерного размягчения в бедренной и лопаточной частях.

Игольчатым шприцеванием в тушу вводят около 3 % воды от массы парной туши; шприцевание производят в убойном цехе или рядом с ним в целые туши или в полутуши крупного рогатого скота, особенно в те их части, где накапливается инъецированный перед убоем фермент. Обеспечивая равномерное распределение фермента и устранение «карманов» в тканях, заполненных ферментным раствором, желательно применять несколько (до пяти) параллельных игл, смонтированных на соответствующем патрубке, по которому в иглы под давлением подается вода или пищевая жидкость. Иглы должны быть небольшими, короткими, распыляющие отверстия сдвинутыми к острию игл.

Иглы следует вставлять в мышцы поперек зернистой структуры. Если полутуша подвешена в убойном цехе, то мышцы свисают вертикально вниз, следовательно, держатели игл нужно вставлять под прямым углом к ним. Длина игл должна быть 10–15 см, в каждой игле должно быть 16–18 распылительных

отверстий, так что вода шприцуются в пучки волокон, а не в пространство между мышцами или мышцами и жиром. Длинные иглы, вставленные в мышцы под углом вниз, часто шприцуют воду в пространства между мышцами или между костью и мышцами. При этом образуются «карманы», заполненные жидкостью, что явно нежелательно.

При размещении держателей игл, как указано выше, давление 2,1–7,7 кгс/см<sup>2</sup> обеспечивает нужное распределение воды, разбавление и равномерное диспергирование ферментного раствора в пучках мышечных волокон. Давление ниже 2,10 кгс/см<sup>2</sup> не обеспечивает достаточного или равномерного распределения ферментного раствора, а выше 7,73 кгс/см<sup>2</sup> приводит к разрыву, разъединению и часто к полному разрушению пучков волокон. Рекомендуется предусмотреть клапан за каждым из патрубков, открывание которого обеспечивает дозирование точного количества жидкости в тушу при каждом введении серии игл. При наличии 4–6 игл на патрубке через них в тушу поступает около 227 г жидкости.

Для полутуши массой 90,6 кг потребуется 8 инъекций, чтобы масса жидкости составила около 2 % от убойной массы, массой 181,2 кг – 16, а массой 136,8 кг – 12 инъекций. Инъекция 1%-ной или 3%-ной жидкости, обусловит, соответственно, большее или меньшее число введений игл. Толстую часть туши, бедренную, можно инъецировать со всех сторон. Температура воды, применяемой для послеубойной инъекции в туши животных, должна быть близка к температуре парных туш, т. е. 37,78 °С.

### **1.7 Стабилизированный очищенный ферментный препарат**

Высокой степени размягчения мясного сырья при обеспечении хорошей текстуры, добиваются посредством инъекции стабилизированного и очищенного раствора фермента в организм животного. Установлено, что промышленные ферментные препараты содержат вещества, вызывающие побочные реакции – в некоторых случаях в виде спазм кишок и образования лимфатических узлов в туше. Кроме того, в них гораздо меньше нормы активного фермента.

Путем очистки и стабилизации ферментного препарата можно получить обратимо инактивированный ферментный раствор, обладающий большей активностью после реактивации и значительно меньшим отрицательным воздействием на органы животного. При данном способе можно использовать протеолитические ферменты, активные при рН крови и рН туши животного (5,0–7,4) и которые можно обратимо инактивировать окислением. К ферментам этой группы относятся бромелин, фицин, папаин, некоторые катепсины и протеиназа ваточника.

Под стабилизированным ферментом или стабилизацией фермента подразумевается ферментный продукт или процесс сохранения ферментного раствора в таком состоянии, при котором возможна его инъекция в организм животного в количестве, достаточном для повышения нежности мышечной ткани, но не вызывающем отрицательных физиологических реакций или нарушений. Такое сохранение осуществляется посредством обратимой инактивации фермента, которая заключается в добавлении инактивирующих веществ или удалении ак-

тиваторов. Таким образом, хотя фермент находится в активном состоянии, он не действует на себя или другие субстраты и не приводит к образованию нежелательных продуктов.

Термины «очищенный фермент» и «очистка» означают ферментный продукт и процесс, при котором фермент, вызывающий размягчение, становится относительно свободным от примесей. Этой очистки фермента добиваются удалением инертных белков, активирующих соединений и других веществ из ферментного раствора. Для обратимой инактивации и очистки фермента без образования таких примесей, как продукты протеолиза, можно применять окисление. Обратимой инактивации можно достичь обработкой фермента окислителями, например перекисью водорода, йодом, кислородом или йодным раствором Люголя. Восстановители активируют ферменты.

Реактивация стабилизированного фермента может произойти под влиянием химических веществ, естественно присутствующих в системе животного, а также после инъекции. В процессе очистки или стабилизации порошкообразный фермент помещают в жидкость (например, воду), суспензию осветляют, если это необходимо, путем центрифугирования или фильтрации, а затем инактивируют перекисью водорода, воздухом или другими окислителями. Раствор можно очистить солевым или спиртовым фракционированием. После этого pH обработанного ферментного раствора при необходимости доводят до 7,0–7,5. Для стерилизации раствора можно применять фильтрацию по Зейтцу.

Пример 1. Приведен способ инактивации фермента, который включает окисление перекисью и удаление избытка перекиси каталазой 5 г промышленного порошкообразного папаина увлажняли таким же количеством глицерина. Смесь перемешивали до консистенции пасты, затем помещали в 100 мл дистиллированной воды, содержащей 3 % перекиси водорода. После этого раствор выдерживали при комнатной температуре (20–30 °C) в течение 30 мин и добавляли каталазу, т. е. 0,25 мл водного раствора, содержащего 2 мг каталазы в 1 мл, добавляют к смеси перекиси и папаина с 10–минутными интервалами до получения 1,75 мл раствора каталазы. Сразу же вносили в смесь 5 г гифлосуперсел, а раствор осветляли фильтрованием через воронку Бюхнера. После пятикратного разведения осветленного раствора водой добавляли хлористый натрий в количестве, эквивалентном 0,85 г NaCl на каждые 100 мл раствора. Доведя pH раствора примерно до 7,3, отфильтровывали его через стерилизующий фильтр Зейтца в простерилизованные бутылки.

Бутылки с обратимо инактивированным ферментным раствором охлаждали и хранили до использования. В момент применения может возникнуть необходимость в корректировке pH до 7,3. Для очистки фермента перед инактивацией его окисляли воздухом либо путем спиртового или солевого фракционирования.

Пример 2. Описан способ солевого фракционирования для получения очищенного ферментного препарата. Промышленный папаин в порошке – 5 г смешивали с 5 г химически чистого глицерина, перемешивали до пастообразной консистенции. Пасту соединяли с 200 г воды, а результирующий раствор осветляли путем фильтрации или центрифугирования. Очищенный экс-

тракт разбавляли 30 мл воды и добавляли 150 г NaCl. Величину pH доводили до 3,5, фермент выпадает в осадок из раствора. После фильтрации или центрифугирования отделяли высоленный фермент от раствора, осадок растворяли в 100 мл воды с pH 7,4. После стерилизации раствор охлаждали и хранили в охлажденном виде до использования.

Полученный таким образом фермент можно предохранить от порчи добавлением достаточного количества перекиси водорода до получения концентрации, эквивалентной 7 мл  $H_2O_2$ /л (или менее 30 %/л). Метод солевого фракционирования для очистки фермента можно модифицировать, приготавливая исходную суспензию фермента в разбавленной (10 % или ниже) перекиси водорода. По этой методике небольшое количество перекиси водорода можно дополнительно ввести в раствор высоленного фермента.

Пример 3. Спиртовое фракционирование осуществляли следующим образом: 5 г промышленного папаина в порошке взвешивали в 100 мл воды, содержащей 3% перекиси водорода. Нерастворимую часть ферментного препарата удаляли центрифугированием, а очищенную надосадочную жидкость обрабатывали 1,75 мл водного раствора каталазы в концентрации 2 г/л для удаления избытка перекиси водорода. Добавляли к ферментному раствору достаточное количество этилового спирта, чтобы получить 55 %-ный раствор этанола. Обработанный перекисью активный фермент нерастворим в 55 %-ном этаноле и выпадает в осадок. После охлаждения раствора до 0 °С для гарантии завершения преципитации раствор центрифугировали, чтобы отделить твердый фермент от раствора примесей. Слив надосадочную жидкость, оставшийся твердый фермент растворяли в 33 мл  $H_2O$ . pH водного раствора доводили до 7,4, а раствор стерилизовали, пропуская через стерилизующий фильтр Зентца. Количество раствора, инъецируемого в организм животного для достижения эффекта размягчения, зависит от концентрации раствора, массы, категории и вида животного. Оно может колебаться от 2,2 до 264 мг/кг. Для инъецирования крупного рогатого скота и овец желательной дозой является 22–330 мг/кг. Оптимальная доза 55–220 мг фермента на 1 кг обеспечивается внутривенным введением 1–10 %-ного раствора.

Процесс инъекции очищенного раствора в организм животного длился около 2–5 мин, после этого животных еще выдерживали в течение 6–15 мин до убоя для обеспечения должного распределения фермента по всем частям туши и контроля размягчающего действия фермента, т. е. равномерность размягчения мяса, предназначенного для тушения, изготовления бифштеков или отбивных. Период выдержки между завершением инъекции фермента и убоем животного может длиться и 1–3 ч, однако примерно через 24 ч тендеризирующий эффект исчезает, если доза не была максимальной. На многих предприятиях, где условия позволяют, убой обычно производят примерно через 30 мин после окончания инъекции в яремную вену.

### **1.8 Синергизм ферментов и антибиотиков**

Когда животному делают инъекцию протеолитического фермента поток крови переносит фермент к печени, очищающей кровь от примесей. В резуль-

тате размягчения в печень поступает очень большое количество фермента, она становится слишком мягкой и пористой и, следовательно, непригодной для продажи. Во избежание этого Бок и др. уменьшили количество фермента, печень приобрела товарный вид, но мясо туши при этом недостаточно размягчилось.

Однако, как установил Б.Е. Вилиам, если вместе с ферментом вводить антибиотик, то в результате буферирования фермента и уничтожения бактерий антибиотиком жесткая сырая печень не слишком размягчается, а лишь становятся мягкими ее кровеносные сосуды. Фермент должен противодействовать увеличению жесткости под влиянием антибиотика или, другими словами, антибиотик должен буферировать фермент, мясо же нуждается в ферменте, так как бактерии, размягчающие мясо, отсутствуют.

При совместном применении фермента и антибиотика в растворе антибиотик способствует переносу и диффузии фермента по сосудистой системе. После убоя скота и подвешивания туши в холодильнике большое увеличение нежности мяса отмечается через 1–10 суток. Антибиотик нейтрализует бактериальный распад. Для этой цели лучше всего подходят тетрациклиновые антибиотики; предпочтительнее брать хлортетрациклин или окситетрациклин, которые отличаются широким спектром действия, эффективны против грамположительных и грамотрицательных бактерий, аэробных и анаэробных (например, *Salmonella*, *Micrococci* и *Clostridia*). Кристаллические исходные вещества светло-желтого цвета, без запаха, горьковатые. Они слабо растворяются в воде при pH 7 (0,25–0,5 мг/мл), но образуют растворимые соли и хлор гидраты. Стойкость растворов всех тетрациклиновых антибиотиков снижается с увеличением pH и температуры.

При тепловой обработке эти антибиотики относительно легко распадаются. В виде сухого порошка исходные препараты и хлор гидраты имеют неограниченную стойкость. При предубойных инъекциях содержание протеолитического фермента должно составлять 1,1 мг/кг массы животного, а антибиотика – от 1,1 до 22 мг/кг, чтобы обеспечить их количество в тканях мяса на уровне 0,1–1 мг%. Вводимый раствор должен содержать 2,5–10 мг% антибиотика.

## **2 Применение ферментных препаратов и ферментирующих факторов для обработки мясного сырья**

### **2.1 Обработка до посмертного окоченения**

Существуют методы прижизненной инъекции ферментных препаратов животному, которые зависят от системы кровообращения животного. Эта идея лежит в основе способа, в соответствии с этим способом разбавленный водный раствор протеолитического фермента вводят в сосудистую систему животного, которое убивают после выдержки в течение времени, достаточного для распределения фермента по мышечным тканям. Модификации этого способа связаны главным образом с контролем распределения фермента для обеспечения более равномерной нежности отрубов мяса и субпродуктов.

В дальнейшем послеубойную обработку рекомендуется проводить до начала посмертного окоченения, когда туша еще теплая. Активности фермента можно добиться до того, как мясо охладится до 12 °С, когда фермент теряет свою активность. Лучшего распределения фермента а, следовательно, и более равномерного размягчения, возможно, достичь в результате обработки ферментов до *rigor mortis*, так как при наступлении *rigor mortis* туша остывает, ткани мяса и жир окоченевают, мешая равномерному распределению растворов от места инъекции.

#### **2.1.1. Синергизм антибиотиков и ферментов**

Б.Е. Вилиам обнаружил, что протеолические ферменты животного происхождения, например, пепсин, томсин и химотрипсин, в сочетании с растительными протеолитическими ферментами или сами по себе обладают синергистическим эффектом в улучшении нежности парного мяса после инъекции в мясо сразу после убоя и до начала *rigor mortis*, если скоту прижизненно был введен антибиотик или парное мясо было обработано антибиотиком путем шприцевания или погружения

Для этой цели пригодны различные антибиотики окситетрациклин, хлортетрациклин, тетрациклин, хлоромидетин, стоентомицин, пенициллин и т.п., но предпочтение отдается антибиотикам широкого спектра действия, которые эффективны в отношении многих грамотрицательных и грамположительных бактерий, а некоторые из них, например окситетрациклин достаточно стабильны при низкой и комнатной температурах, но распадаются при нагревании.

Антибиотики могут находиться в любой известной антибактериально активной форме в виде основания или кислоты *per se*, или солей, а пенициллин – в виде органической основной соли металла.

Обычно количество антибиотика относительно массы животного очень невелико. Когда антибиотики вводят перед убоем внутрибрюшинно или у основания уха и хвоста достаточно 2,2–22 мг на 1 кг живой массы, а лучше 4,4–11 мг. Доза 17,6 мг на одно животное оказалось эффективной при введении за 1–4 ч до убоя. Такое же количество применяют для орошения, шприцевания, погружения и других методов обработки. Пепсин, трипсин и химотрипсин наиболее активны в парной говядине с кислым диапазоном pH, а при изменении pH до нейтрального или щелочного они теряют активность. Следовательно, нет

необходимости применять специально как-либо ингибиторы (что требуется для растительных протеолитических ферментов).

Пепсин, действующий в желудке в кислом диапазоне (рН 2), эффективен в мясе только при быстром образовании молочной кислоты во время посмертного окоченения. Трипсин активный в кишечнике в менее кислой среде (рН около 5) начинает оказывать действие, в начале посмертного окоченения ослабевая к концу посмертного окоченения, когда рН приближается к 6–7. Катепсин – это межклеточный фермент естественно присутствующий в мясе установлено, что его действие стимулируется аскорбиновой кислотой.

Таким образом, сочетание добавляемых ферментов животного происхождения имеет размягчающий эффект в первые 24–48 ч посмертного окоченения и сохраняет активность до приближения рН мяса к нейтральной величине или несколько щелочной; в этот момент их эффективность уменьшается или прекращается полностью; следовательно, нет необходимости в ингибиторе. Гидролиз мышечного белка можно стимулировать инъекцией желатина или казеина в парное мясо. В раствор добавляют около 1% поваренной или другой гигроскопичной пищевой соли. Желатин способствует распределению жидкости по тканям парной туши, как и гиалуронилаза. Объем инъецируемого раствора обычно равен 2,8 л на 272 кг убойной массы туши бычка, т. е. примерно 1% от массы парной разделанной туши, а с этим количеством раствора надо использовать 7 г сухого пищевого желатина из говяжьих костей, 85–87% белка. Крупному рогатому скоту антибиотик можно вводить до или после убоя. Парную тушу, затем шприцуют раствором фермента животного происхождения, пока она еще теплая, расслабленная, до начала посмертного окоченения. В одном из случаев крупному рогатому скоту вводили 1 г окситетрациклина в виде гидрохлорида в 50 мл стерильной дистиллированной воды. Через 2 ч после инъекции животное убили. Затем в одну тушу игольчатым методом шприцевали 1,4 раствора фермента, который готовили из 1,4 л стерильной воды, 1 г смеси равных количеств пепсина и трипсина, 7 г порошкообразного костного желатина, 28,3 г казеина и около 1% обычной соли. Затем обе полутуши поместили в остывочную камеру. Через 48 ч из поясничного «глазка» брали пробы для дегустации.

Бифштексы из контрольной полутуши, не обработанной ферментным раствором, были чрезвычайно жесткими и невкусными, из обработанной – отличались повышенной нежностью и сочностью. В этом случае пептин и трипсин брали в равных количествах, но это не обязательно. Действие трипсина и пепсина проявляется при разных рН, и их сочетание синергистически улучшает нежность мяса парных туш во время и после посмертного окоченения.

Трудно, можно сказать, невозможно определить критическое содержание пепсина и трипсина или химотрипсина в инъецируемом растворе, так как они применяются в малых количествах. Можно утверждать, что патент охватывает следующее соотношение 1–3 части пепсина на 3–1 части трипсина. Эти ферменты в растворе одинаково важны вследствие их синергистического действия: один активен на одной фазе посмертного окоченения, другой – на других и даже после него, а поэтому вместе они заметнее повышают нежность чем, если бы использовались раздельно. А вот и дополнительный, если не синергистиче-

ский, эффект этих ферментов животного происхождения: коллаген в мясе обладает резистентностью к трипсину и химотрипсину, а также к папаину, но пепсин легко разваривает коллаген, повышая тем самым нежность мяса.

### **2.1.2 Буферированный фермент в сочетании с желатином**

Попытки инъектировать протеолитические ферменты и желатин в виде водных растворов в парную тушу до завершения посмертного окоченения с целью повысить нежность мяса и сделать его более твердым окончились неудачей. Ферменты и желатин совместимы в сухом состоянии, но когда их растворяют в воде и вводят в тушу, фермент атакует и разваривает желатин до того как проявляется действие желатина на мясо.

Б.Е. Вилиам установил, что действие фермента в водном растворе можно буферировать или временно ингибировать и не допустить агрессивного влияния на желатин путем добавления консервантов соли или сахара в виде водного раствора. Добавленный буфер (соль или сахар или то и другое вместе) защищает желатин, так что он не редуцируется до слизи в мясе. Желатин сохраняет свою консистенцию в мясе и улавливает избыточную влагу, тем самым, улучшая цвет и текстуру мяса. Что касается фермента, то буферизируется только его действие на желатин, но не на эластин, коллаген или белок мяса: он размягчает соединительную ткань и пучки мышечных волокон, и после тепловой обработки мясо получается более нежным. Были проведены опыты с таким водным раствором, содержащим 7,4–22,5 г желатина на 1 л воды, протеолитический фермент активностью 20–100 ГЕ/г и буферизирующую соль или сахар в количестве 14,9–44,9 г на 1 л; давление при инъекции составляло 2,1–7,7 кгс/ на см<sup>2</sup> (предпочтительно 2,8–7 кгс/ на см<sup>2</sup>), поддерживали температуру раствора на уровне температуры тела животного 37,8 до 60 °С, чтобы не инактивировать фермент, но при этом старались применять по возможности высокую температуру; чтобы улучшить цвет и сочность мяса. Раствор в количестве 2,5–3 % от массы туши крупного рогатого скота шприцевали в пучки мышечных волокон при вышеупомянутых давлении и температуре. При тепловой обработке мяса желатин растворяется и активизирует действие фермента на коллаген, эластин и белок, размягчая мясо.

### **2.1.3 Изотонический ферментный раствор, обладающий специфической активностью**

Ферментные препараты стабильного и относительно равномерного размягчающего действия были предложены О.О. Силберштейном. Препараты состоят из смеси протеолитического фермента и вещества, обеспечивающего осмотическое давление, причем протеолитическая активность в изотоническом растворе равна 0,01–0,05 молоко свертывающих единиц (МС ед.) на 1 г. Компонент, обеспечивающий осмотическое давление, может состоять из одного или нескольких веществ, например хлористого натрия, декстрозы и однонатриевого глутамата, кроме того, содержать один или несколько протеолитических ферментов, например папайи, фицин и бромелаин, а также различные протеазы животного и микробного происхождения.

В соответствии с данным патентом достаточное количество фермента растворяют в воде, содержащей соответствующие вещества, обеспечивающие осмотическое давление, и получают приблизительно изотонический раствор активностью 0,01–0,05 МС ед. на 1 г (предпочтительно 0,02–0,25 МС ед. на 1 г). Протеолитическую активность папаина в молоко свертывающих единицах определяют методом Болла и Гувера, модифицированным Кинкелем и Алфордом.

Затем раствор инъецируют под давлением в те участки туши, которые нужно размягчить. Количество инъецируемого раствора тщательно контролируют: оно не должно превышать 4 % от убойной массы парной туши (предпочтительно 2–3 %). На практике препараты, содержащие фермент, поставляют в виде сухого порошка. Потребитель растворяет его в количестве воды, необходимом для получения изотонического раствора соответствующей ферментной активностью. Рекомендуется использовать твердую смесь с достаточным содержанием фермента и NaCl или любого другого вещества, обеспечивающего осмотическое давление, для получения раствора с осмотическим давлением, эквивалентным 0,85 % NaCl. Например, твердую смесь, содержащую 26,5–37,5 г соли, можно растворить в 3,78 л воды и получить нужный раствор.

Если применять гипотонические растворы, то влага проходит через стенки внутрь клеток мяса, где содержание соли выше. В результате наблюдается отрицательное воздействие на текстуру и вкус обработанного мяса. Удаление избытка влаги из клеток требует много времени и тоже может неблагоприятно сказаться на текстуре и вкусе мяса. С другой стороны, применение гипертонических растворов приводит к высыханию клеток, так как находящаяся в клетках влага выходит из них под влиянием осмоса. Происходящее высыхание клеток ухудшает текстуру и вкус мяса.

Тушу, предназначенную для размягчения, не обязательно специально подготавливать к обработке. Однако чтобы обеспечить получение удовлетворительных результатов, туши надо обрабатывать вскоре (в течение 45 мин) после убоя, пока они находятся в парном и расслабленном состоянии, т. е. до начала посмертного окоченения, которое может помешать равномерному распределению фермента. Если следовать этому правилу, то распределение фермента происходит гораздо лучше, чем при прижизненной инъекции и любым другим методом.

Инъекцию производят под давлением, которое можно варьировать, чтобы обеспечить адекватное распределение фермента. Однако слишком высокое давление может вызвать механическое разрушение ткани и привести к локальному чрезмерному размягчению. Обычно давление не выходит за пределы 1,4–4,9 кгс/см<sup>2</sup>, но рекомендуется придерживаться 1,7–2,4 кгс/см<sup>2</sup>. Количество инъецируемого ферментного раствора можно изменять: относительно менее нежные анатомические участки туши должны получить больше фермента, например до 4% (верхний предел). В некоторых случаях можно рекомендовать селективно размягчать отдельные участки туши, инъецируя более концентрированный раствор фермента в менее нежные отрубы и такое же количество, но менее концентрированного раствора в более нежные.

#### 2.1.4 Размягчение соединительной ткани

Поскольку послеубойное созревание и введенные протеолитические ферменты обычно повышают нежность мяса, не размягчая соединительную ткань, необходимо повлиять на коллаген и эластин одним или несколькими ферментами. Б.Е. Вилиам разработал способ, при котором подлежащую размягчению тушу шприцуют с помощью игольчатого устройства после убоя и разделки водным раствором ферментов, которые размягчают коллаген и эластин соединительной ткани. Единственными ферментами, способными атаковать нативный коллаген и эластин, являются коллагеназа и эластаза (соответственно).

Коллагеназа – это фермент, разрушающий нативный коллаген, стойкий к действию всех известных протеолитических ферментов и специфически воздействует только на коллаген и продукты его распада, не влияя на родственные белки или синтетические субстраты. Коллагеназу получают из *Clostridium histolyticum*. Она действует в кислой среде и эффективна в отношении коллагена. Эластазу получают из свиной поджелудочной железы, она действует в щелочной среде при pH около 8,8. Таким образом, они являются синергистами, т. е. один фермент активен в щелочной среде парной говядины до посмертного окоченения, другой – во время посмертного окоченения в кислой среде. Посмертное окоченение сопровождается периодическим спонтанным образованием молочной кислоты.

Термин «коллаген» относится к химическому веществу животного происхождения. Коллаген – натуральный фиброзный высший полимер небольшой эластичности, но механически прочный. Около 80 % соединительной ткани говядины составляет коллаген и около 20 % – эластин. Коллаген – это простой альбуминоидный белок, который при обычной температуре не растворяется в воде, слабых кислотах и щелочах и в солевых растворах, например хлористого натрия и сульфата аммония. В нативном состоянии коллаген резистентен к действию большинства протеолитических ферментов. По физико-химическим свойствам он отстоит от других белков. Приведен пример применения вышеназванного способа.

Несколько говяжьих полутуш шприцевали раствором, содержащим по 1 г коллагеназы и эластазы и 2,8 л питьевой воды и составляющим примерно 3 % от массы полутуши. Содержание соли в растворе равнялось 0,8 %; соль не повышает нежность, ее функция – поддерживать естественное содержание соли в говядине. Для тепловой обработки полутуши поместили в камеру с перегретым острым паром, где поддерживалась температура чуть ниже 48,8 °С, и выдерживали, пока внутренняя температура *dorsi* (поясничного и реберного «глазка») не поднялась до 40,5–43,3 °С. Для этого требовалось 1–2 ч. После нагревания полутуши поместили в холодильник и охлаждали до 1,6 °С.

Затем, пользуясь оборудованием для диатермического нагрева, полутуши за несколько минут равномерно довели до вышеназванной температуры. Критическим фактором является не продолжительность нагрева, а достигаемая температура. Тепловая обработка, ускорившая посмертное окоченение, значительно способствовала проявлению действия коллагеназы, которая активна и эффективна в кислом диапазоне pH, т. е., во время посмертного окоченения.

Следовательно, нагревание намного усилило эффект фермента, воздействующего на коллаген, который, как упоминалось выше, составляет 80% соединительной ткани говяжьей туши. Без тепловой обработки нельзя добиться какого-либо существенного размягчения ни через сутки, ни через пять, а при нагревании коллагеназа и эластаза давали положительные результаты через 24 ч и через 5 суток.

### **2.1.5. Ферментные растворы, буферированные холодной водой**

Б.Е. Вилиам сделал открытие, что, если водный раствор протеолитического фермента хранить примерно при 0 °С, действие фермента после инъекции в парную расслабленную тушу до завершения посмертного окоченения буферизируется так, что очень незначительное действие фермента наблюдается до остывания мяса и почти 90 % размягчающего действия фермента приходится на период тепловой обработки мяса. Это обеспечивает очень равномерную тендеризацию мяса. Рекомендуется хранить ферментный раствор примерно при 0 °С, так как при этом фермент бездействует, и раствор сохраняет однородность, не происходит саморазрушения фермента до инъекции.

Буферирование действия фермента растворением в холодной воде не допускает чрезмерного и неравномерного размягчения, образования пористой структуры мяса; обеспечивает равномерную концентрацию ферментного раствора до его инъекции в мясо. В холодных водных буферированных растворах нужен более сильный протеолитический фермент, так как продолжительность размягчения мяса меньше. Водный раствор протеолитического фермента можно хранить и применять при температурах чуть ниже 0 °С без замерзания раствора, если раствор содержит изотоническое количество соли; его можно хранить и использовать при температурах несколько выше 0 градусов, если его температура после инъекции не поднимается под влиянием тепла тела животного выше 12,7 °С.

Изотоническое содержание соли в холодном водном растворе протеолитического фермента составляет 1,8 %; в раствор можно вводить различные сахара, а также другие химические вещества для недопущения замерзания раствора при температурах несколько ниже 0 °С. Можно использовать все протеолитические ферменты. Папаин различной степени очистки и силы доступен в промышленном масштабе, поэтому предпочитают его. При температуре хранения его раствора 0 °С он почти полностью бездействует. Такой холодный водный раствор инъецируют в горячепарную тушу крупного рогатого скота, его температура повышается примерно на 20 °С, но не превышает 12,7 °С. Известно, что говядина размягчается незначительно при остывании туши до 12,7 °С или ниже, а при температуре 12,7 °С практически пассивна. При температуре замерзания никакого размягчения мяса не происходит, фермент не проявляет абсолютно никакого действия. Поэтому очевидно, что даже после инъекции в парную тушу активность водного раствора фермента буферизируется температурой раствора в мясе в диапазоне 12,7 °С. Очень небольшое размягчение говья-

дины может произойти после инъекции и до того, как туша остынет в остывочной до обычной температуры 1,6–5,5 °С.

Введение в тушу холодного водного раствора имеет еще одно преимущество; туша, по крайней мере, ее тонкие части, остывает быстрее, так что в первых, остывочных камерах можно поддерживать температуру 1,1 °С, т. е. температуру холодильной камеры хранения вместо обычной температуры от –3,3 до –2,2 °С. Период активности протеолитического фермента, буферированного в соответствии с данным процессом, относительно невелик и приходится в основном на тепловую обработку мяса, так что следует использовать более сильные и лучше очищенные ферменты. Сила протеолитического фермента выражается в ГЕ/г, где Г – гемоглобин, Е – единица, а г – грамм. Таким образом, если протеолитический фермент имеет силу 100 ГЕ/г, то он в 2,5 раза эффективнее разваривает гемоглобин, чем фермент силой 40 ГЕ/г.

Буферированные холодной водой ферментные растворы, содержащие протеолитический фермент силой 100 ГЕ/г, оказались слишком сильными: мясо после тепловой обработки, особенно длительной (например, тушения и обработки на пару), было слишком мягким. Ферменты силой 40 ГЕ/г, как установили, наиболее эффективны. Когда вместо папаина берут бромелин или фицин, их количество составляет 1/4 от количества папаина, так как очищенные бромелин и фицин в 4–7 раз сильнее очищенного папаина.

Можно брать и смеси папаина, бромелина и фицина силой около 40 ГЕ/г. Например, тушу бычка массой 271 кг разделили на 2 полутуши примерно по 136 кг, а левую полутушу шприцевали водным раствором папаина (количество раствора составляло 3 % от массы туши, или 2,5 % от массы бескостного мяса полутуши), содержащим 42,5 г соли и 1 г папаина силой 40 ГЕ/г, с температурой примерно 0 градусов. Раствор инъецировали под давлением 2,5–7 кгс/см<sup>2</sup> (в среднем, 3 кгс/см<sup>2</sup>). Опытную и контрольную полутуши затем подвешивали в холодильнике при температуре от –2,2 до –1,1 градусов. Через 24 часа из них вырезали бифштексы и подвергали кулинарной обработке. Образцы из опытной полутуши были более нежными, чем из контрольной.

### **2.1.6 Инъекция воды**

Б.Е. Вилиам обнаружил, что, если в тушу свежееубитого животного до смертного окоченения инъецировать 1–3 % (а лучше 2 %) воды под давлением 2,8–7 кгс/см<sup>2</sup> температурой примерно 37 °С, нежность мяса повышается на 20 % за несколько суток. Количество воды и давление имеют большое значение; очень незначительно увеличивалась нежность при объеме инъекции 1 % и давлении 2,4 кгс/см<sup>2</sup>.

Количество игл для шприцевания воды в тушу под давлением зависит от размера туши и вида отруба. Например, 6–12 игл можно использовать для инъекций в полутушу крупного рогатого скота, давление при этом может создаваться любым способом. 2–3 иглы можно вставить в бедренную часть, по одной у конца поясничной части и в филейный отруб, одну в ребренную часть, одну в грудной отруб и одну в каждую мышцу голени. Остальные можно ввести в лопаточную часть: одну вниз к шее, другую горизонтально к лопатке. Можно ис-

пользовать большее количество меньших по размеру игл, смонтированных по спирали, для шприцевания жидкости в мышцы через определенные интервалы. Для обеспечения наилучших результатов иглы должны быть длиной около 17,0 см, диаметром 0,6 см и иметь примерно 12 отверстий (первое на расстоянии около 2,5 см от конца иглы).

Считают, что повышение нежности при таком методе связано как с физическими, так и химическими аспектами. С физической точки зрения вода под относительно высоким давлением проникает в пучки мышечных волокон, разъединяет и разрывает их, увеличивая нежность мяса. Добавленная вода при тепловой обработке расширяется и еще более разделяет, размягчает и разрывает волокна, и тем самым нежность мяса увеличивается.

Инъецируемая под давление вода химически активизирует естественно присутствующие в мясе ферменты, которые являются гидролитическими и действуют быстрее и эффективнее вследствие повышенного влагосодержания. Кроме того, температура воды 37,7 °С (но не выше 48,8 °С) замедляет остывание мяса и вследствие этого стимулирует посмертное окоченение, тем самым еще более увеличивая нежность мяса, так как чем быстрее начнется посмертное окоченение, тем быстрее произойдет тендеризация мяса. Все вышесказанное относится к обычной воде – стерильной или питьевой, инъецируемой в достаточном количестве и под указанным давлением. В воду можно вводить добавки: желатин, являющийся гигроскопичным и способствующий распределению добавленной воды в мясе; фосфаты, способствующие удержанию влаги в тканях мяса; соль в изо или гипотоническом количестве. Но еще раз надо подчеркнуть, что эти добавки необязательны. Если применяют соль гипертонической концентрации, то наблюдается тенденция осмотического перемещения влаги в пучках волокон в пределах клеток или с выходом из клеток. Если вода не содержит соли или концентрация последней является гипотонической, то отмечается, что соль, естественно присутствующая во внутриклеточной влаге, притягивает воду через стенки клеток и удерживает ее.

### **2.1.7 Инъекция воды и газа**

Если чистую воду или содержащую рекомендуемые добавки вводить игольчатым шприцем в тушу до начала посмертного окоченения и одновременно под давлением газ для расширения мышечных волокон, то не только увеличивается нежность мяса, но и мясо под действием газа разбухает, улучшаются его органолептические показатели. Газ можно вводить до, во время или после инъекции воды либо вместе с водой. При всех этих методах газ способствует растяжению волокон мяса и диспергированию в нем воды. Вода проникает в волокна мяса, разъединяет их и насыщает водой.

Газ и вода под давлением раздвигают пучки волокон и отдельные волокна, увеличивая нежность мяса, а улучшение диспергирования воды в мясе намного повышает нежность его после тепловой обработки.

Б.Е. Вилиам обнаружил, что существует критический диапазон давления для газа. При давлении газа ниже 2,1 кгс/см<sup>2</sup> он не может быстро и полно диспергироваться в мясе и нужной повышенной дисперсии воды не достигают. Ес-

ли давление газа превышает  $7,7 \text{ кгс/см}^2$ , пучки волокон и отдельные волокна надуваются или разрываются и в мясе образуются кровавые точечные пятнышки.

При таком высоком давлении обычно мясо слишком сильно раздувается газом. Оптимальным является давление  $2,8\text{--}7 \text{ кгс/см}^2$  для обеспечения нужной степени диспергирования воды в мясе без чрезмерной деформации и разрыва волокон и пучков, без нежелательного вздутия мяса и образования пористости. Рекомендуется пользоваться воздухом вследствие его доступности, поскольку кислород воздуха окисляет миоглобин или пигмент крови в мышцах, делает его более светлым ярко-красным, что очень желательно. Однако, можно применять и другие газы.

Одним из них является газ, содержащий 85 % азота, 12 %  $\text{CO}_2$  и 1–3 %  $\text{CO}$ , следы водорода, кетонов и др., образующихся при сгорании бутана или пропана при отсутствии воздуха: такой же газ дает отличные результаты, так как  $\text{CO}$  делает цвет мяса ярче без окисления. Пригодны и другие инертные газы, например азот, углекислый газ и т. п. Количество воды, шприцуемой с газом, составляет примерно 3 %, но не более 5 % от массы парной туши. Вода может иметь температуру примерно  $37,7 \text{ }^\circ\text{C}$ . Во всех случаях температура инъецируемой среды должна быть высокой – не ниже температуры тела убитого животного.

В горячепарном мясе до начала посмертного окоченения газ расширяет ткани мяса, делает их пористыми, улучшает попитательную способность; его количество составляет примерно 3 % от массы парной туши; газ увеличивает массу туши на ту величину, которая будет впоследствии потеряна в результате испарения, когда туша висит в остывочной камере. Вместе с газом шприцуют около 3% воды от массы парной туши (обычно 4 кг на 136 кг массы туши); это количество распределяют между бедренным, лопаточным, реберным и грудным (грудинка + «завиток») отрубями. После шприцевания обработанную полутушу помещают в обычную остывочную камеру и выдерживают там, в течение 7 сут при  $1,6 \text{ }^\circ\text{C}$ .

Как отмечалось выше, мясо увеличивается в размере при вдувании воздуха или газа: примерно на 10 % при вышеназванном давлении. Воздух или газ постепенно выходят из туши, но после шприцевания жидкости достигают постоянного увеличения размера туши или отдельных отрубов примерно на 10 %. Бифштексы из поясничной, реберной, лопаточной и бедренной частей примерно на 10 % больше в диаметре, чем аналогичные бифштексы из контрольной полутуши. При толщине бифштексов 2,5 см выход их из поясничного и бедренного отрубов может увеличиться на 1–2 шт.; то же самое можно сказать и о порционном мясе для тушения из реберного, лопаточного и кострецового отрубов.

### **2.1.8 Инъекция воды и целлюлозной камеди**

С целью только размягчения мяса можно пользоваться простой водой, для достижения особой степени нежности в воду добавляют различные протеолитические ферменты. Водный раствор обычно шприцуют в тушу. Если иголь-

чатое шприцевание выполняют неквалифицированно (особенно применительно к некоторым видам мяса), можно получить водянистое мясо. В водный раствор можно добавить желатин во избежание водянистости мяса. Однако желатин часто дает нежелательный остаток после тепловой обработки. Кроме того, при использовании водного раствора фермента, желатин добавлять нельзя, так как фермент сильнее действует на белок желатина, чем на мясо.

Б.Е. Вилиам установил, что пищевые целлюлозные камеди, разрешенные законодательством, если их добавить в водный раствор, вводимый путем игольчатого шприцевания в тушу, поглощают, удерживают и распределяют добавленную или свободную воду, тем самым, улучшая текстуру мяса и не допуская образования водянистости. На такие пищевые целлюлозные камеди не влияют ферменты. Одной из них является натрийкарбоксиметилцеллюлоза, которая известна еще под названием гликолат целлюлозы. Эта камедь легко растворима в горячей и холодной воде не поддается замораживанию. Можно применять и другие пищевые коллоидные вещества, камеди, гели, водоросли и крахмаль.

В соответствии с запатентованным процессом в парную расслабленную (до посмертного окоченения) тушу крупного рогатого скота массой 136 кг ввели 2,8 л водного раствора, содержащего 28,3 г гликолата целлюлозы. Эти 2,8 л воды составляли приблизительно 2 % от массы полутуши. Гликолат целлюлозы стусил раствор, поэтому потребовалось увеличить давление инъекции в иглах до 7 кгс/см<sup>2</sup>, а в результате в туше раствор диспергировался под давлением около 4,2 кгс/см<sup>2</sup>. Такое давление в иглах обеспечило хорошее распределение растворов, содержащих пищевые целлюлозные камеди, в мясе. Обработанные таким образом контрольные говяжьи полутуши подвесили в обычной остывочной камере на 7 суток. Текстура мяса опытной полутуши улучшилась, в нем не было видимых добавлений влаги, водяных карманов, мясо не было водянистым. Целлюлозная камедь с успехом вбирала в себя, распределяла и удерживала избыток влаги, соединяя естественно присутствующую в мясе жидкость и соки с инъецируемым раствором. Гигроскопичная камедь собирала и удерживала в себе всякий избыток влаги в говядине. Органолептическая оценка опытного вареного мяса указала на его более равномерную нежность. Фермент можно использовать в таком инъецируемом растворе вследствие отсутствия его сродства с целлюлозной камедью.

### **2.1.9 Инъекция цельной крови или цельного молока**

Б.Е. Вилиам разработал процесс обработки парных расслабленных туш животных в убойном цехе цельными кровью или молоком, чтобы улучшить нежность, вкус, сочность и товарный вид мяса после тепловой обработки. При желании любые растворы в соответствии с изобретением могут содержать такие добавки, как соль, сахар и желатин, причем пропорционально или изотонически относительно естественно присутствующих в мясе веществ. Кровь можно собирать непосредственно из аорты в стерильную тару, исключая воздействие воздуха; затем ее шприцуют в тушу под давлением, которое было указано ранее.

При использовании крови из аорты нет необходимости в добавках, не допускающих ее окисления или коагуляции. Применение восстановленной крови не требует антиокислителей или антикоагулянтов. Введение ее в мясо не приводит к появлению в нем точечных кровообразований. Конечно, если кровь шприцуют в парную тушу под давлением в иглах около  $7,7 \text{ кгс/см}^2$ . Такие точечные образования возможны вследствие разрыва мышц, но это может произойти при инъекции любого раствора. Наилучших результатов добиваются при давлении инъекции  $1-7,7 \text{ кгс/см}^2$  и количестве инъецируемой жидкости  $1-3\%$  (но не более  $5\%$ ) от массы мяса. Рекомендуемый оптимальный диапазон давления  $1-2,8 \text{ кгс/см}^2$ . При использовании крови из аорты животного обычно нет необходимости подогревать ее до температуры тела, т. е.  $36,6-41 \text{ }^\circ\text{C}$ , в зависимости от состояния скота и способа убоя. При испытаниях наблюдали перепад в температуре крови в аорте при инъекции, равный всего  $2-3 \text{ }^\circ\text{C}$ , поэтому подогревать кровь не надо. Цельную кровь животного, восстановленную или охлажденную рекомендуется подогревать до  $32-41 \text{ }^\circ\text{C}$ , чтобы ее температура приблизилась к температуре туши и мясной белок не свернулся; это облегчает распространение жидкости.

Хорошие результаты с использованием свежей и восстановленной крови могут быть связаны с тем, что ферменты в крови крупного рогатого скота действуют синергистически с ферментом катепсином в тканях мяса, обеспечивая высокую степень нежности обработанного мяса после тепловой обработки. Повышение нежности мяса, инъецированного цельным молоком, вероятно, связано с синергистическим действием естественных ферментов молока и мышечной ткани мяса.

Пример 1. Тушу бычка убойной массой  $272 \text{ кг}$  разделяли на полутуши левую парную полутушу (до начала посмертного окоченения) инъецировали игольчатым шприцем под давлением  $1-2,8 \text{ кгс/см}^2$  кровью из аорты в количестве  $3\%$  от массы туши (потребовалось примерно  $4 \text{ кг}$ ); затем обе полутуши охлаждали традиционным способом. После этого опытную и контрольную полутуши разделяли на розничные порции, подвергали тепловой обработке и оценивали органолептически. Инъецированное мясо отличалось лучшим цветом, несколько более высокой нежностью и сочностью, а также вкусом.

Пример 2. Тушу бычка разделяли на полутуши. Левую полутушу инъецировали водным раствором (около  $4 \text{ л}$ ) сублимированной крови, гидратированной до консистенции нормальной крови, в который добавляли по  $28,3 \text{ г}$  желатина, соли и сахара; давление было таким же, как в примере 1. Обе полутуши подвешивали в холодильнике. После охлаждения из обеих полутуш брали аналогичные образцы, подвергали тепловой обработке и проводили дегустацию. Были получены такие же результаты, как и при использовании свежей крови из аорты. Восстановленную кровь подогревали до температуры парной туши. Давление в иглах было  $2,8-7 \text{ кгс/см}^2$ . При использовании восстановленной крови можно добавлять соответствующее количество витамина С в качестве антиокислителя.

Пример 3. Парную говяжью тушу разделяли на полутуши; левую инъецировали цельным молоком в количестве около 2 % (2,7 кг на полутушу массой 136 кг), температура молока была аналогичной температуре тела животного, давление инъекции равнялось 1–2,8 кгс/см<sup>2</sup>. Опытную и контрольную полутуши помещали в холодильник, и через некоторое время (примерно через 5 суток) из них вырезали бифштексы и оценивали органолептически после тепловой обработки. Нежность и сочность опытных бифштексов заметно увеличились. В образцах с цельным молоком цвет может быть светлее. Некоторые отрубы обработанной говядины напоминали по цвету молочную телятину. Это имеет большие преимущества на ряде рынков сбыта.

## **2.2 Обработка мясного сырья после посмертного окоченения**

Увеличение жесткости мяса во время или после посмертного окоченения объясняют, главным образом, образованием актомиозинового комплекса из актина и миозина. Последующее размягчение основано на протеолизе белковых комплексов и соединительной ткани в связи с ионной перегруппировкой и на увеличении степени гидратации белка. Ниже даны процессы, контролирующее размягчающее действие ферментов, направленное на равномерное увеличение нежности мяса. Для повышения влагоудерживающей способности мяса обычно добавляют водо-связывающие вещества.

### **2.2.1. Размягчающий препарат**

В течение ряда лет на рынке имеются препараты, обладающие размягчающим действием. Активным, а иногда и единственным ингредиентом таких препаратов является протеолитический фермент, как правило, папаин. Иногда применяют экстрагированный из растения или плодов папайи сок. Эти препараты обладают сильным размягчающим действием в отношении мяса вследствие разваривающей активности присутствующих ферментов. Краткое или продолжительное воздействие препаратов на поверхность мяса делает ее несколько пульпообразной, мягкой. В результате такой обработки изменяется исходная клеточная структура мяса, внешний вид и физические свойства.

Заметно изменяется пережевываемость вареного мяса. Интенсивность разваривания мяса размягчающими препаратами не поддается контролю разбавлением препарата или сокращением продолжительности контакта. Даже слабый раствор протеолитического фермента полностью дезинтегрирует кусок мяса при достаточно продолжительном воздействии. Слишком короткое воздействие недостаточно для размягчения мяса. Другими словами, независимо от метода применения препаратов, размягчающее и пульпообразующее действие сопутствуют друг другу.

В.О. Фрайсдорф создал улучшенный вариант размягчающего препарата путем обработки мяса водной дисперсией протеолитического фермента животного или растительного происхождения и контролирующего вещества, содержащего белковый продукт животного или растительного происхождения, лучше в частично гидролизованном состоянии, и соль глутаминовой кислоты, например однонатриевый глутамат (но она не обязательна).

Компоненты раствора рекомендуется использовать в виде смеси порошков. Практически, можно брать любой активный протеолитический фермент, например трипсин, пепсин и др. животного происхождения, и известные ферменты растительного происхождения, например папаин, фицин (из листьев инжира), бромелин (из ананаса), асклепайн (из латекса заточника), арахин (из арахиса) и смесь протеаз, присутствующих в созревшем зерне. Все это ферменты типа протеазы, активно влияющие на всю белковую молекулу. Эффективными могут быть протеолитические ферменты из дрожжей, однако предпочтение отдается папаину вследствие его доступности, относительно невысокой стоимости и других преимуществ. Более того, нет необходимости в высокоочищенном папаине. Сухие экстракты сока папайи, содержащие значительное количество активного папаина, отлично подходят для осуществления предлагаемого способа.

Пример. Препарат готовили из сухой смеси, состоящей из 1 части папаина в порошке промышленного производства, 12 частей порошковой смеси равных количеств гидролизованного растительного белка и животного белка и 4 частей однонатриевого глутамата. Соответствующим промышленным белковым препаратом является тот, который имеется в продаже для изготовления мясного бульона. Такую смесь можно хранить неопределенное время. Для обработки мяса 14 г смеси (но можно брать до 28 г) растворяют в теплой или горячей воде.

Раствор выдерживают 5–10 мин, затем выливают в невысокий поддон. Ломтики говяжьей вырезки, например, такого размера, как куски мяса для жарения, опускают в поддон и переворачивают, чтобы увлажнить раствором с обеих сторон. Можно воспользоваться вилкой для прокалывания мяса; это помогает раствору проникнуть в мясо, а также определить его характер. Обычно достаточно 10–минутной обработки. Затем ломтики вырезки обжаривают, после чего они по нежности и пережевываемости не уступают лучшим бифштексам из говядины высшего сорта.

Обработанное и выдержанное мясо можно обжаривать сразу либо хранить несколько часов в холодильнике до тепловой обработки, либо замораживать и хранить несколько суток. Перед длительным хранением мяса раствор с него удалять не следует, так как препарат не обладает длительным действием. Белковые продукты, добавленные к ферменту, вероятно, обладают буферным действием, модифицируют фермент или, возможно, образуют слабую химическую связь с ферментом. Может быть, есть и другие причины. Протеолитические ферменты сами по себе являются белками, и, очевидно, ферменты и белки в растворе каким-либо образом взаимодействуют.

Как было указано, гидролизованные белки наиболее эффективны, и наилучшие результаты дает смесь гидролизованных белков растительного и животного происхождения. Хотя можно использовать такие вещества, как желатин, высушенные, яичные белки и т. п., в смеси они не так эффективны, как гидролизованные растительные и животные белки. Очень хорошо проявляет себя в смеси однонатриевый глутамат. Он контролирует и ослабляет действие фермента, не допуская образования слишком мягкого продукта.

Глутаминовая кислота – это аминокислота; этим можно объяснить совместное действие с гидролизованным белком и протеазой. Если добавлять меньше однонатриевого глутамата, то следует увеличить содержание гидролизованного белка, и можно изменить пропорции компонентов смеси: на 1 часть сухого протеолитического фермента применять 6–24 части гидролизованных белков и 2–6 частей однонатриевого глутамата.

### **2.2.2 Газ как носитель размягчающего реагента**

С.Ж. Ватенбаргер разработал способ обработки мяса, при котором нужные добавки, в частности размягчители, можно ввести в мясо и быстро и равномерно распространить их по нему независимо от того, являются ли эти добавки газами, жидкостями, твердыми веществами или их смесями, растворимы и нерастворимы они в самом мясе.

Когда газ или смесь газов инъецируют в массу твердого мяса, газ разделяет мышечные волокна и перегородки, структура ткани становится открытой, или пористой. На практике предпочитают применять давление 1,4–7 кгс/см<sup>2</sup> в течение 0,1–5 с, хотя допустимо даже давление 0,35 кгс/см<sup>2</sup> и превышающее верхний предел при условии, что целостность периметра массы мяса не нарушается. Например, струя газа мгновенного действия под давлением 210 кгс/см<sup>2</sup> вскрывает структуру полностью охлажденного твердого мяса на глубину 10–13 см.

Наиболее желательная степень пористости внутренней структуры мяса обычно достигается при введении 10–20 об. % сжатого газа. При введении других ингредиентов рекомендуется инъецировать первую порцию сжатого газа, по крайней мере, чтобы инициировать образование пористой структуры внутри ткани, а затем диспергировать в виде тумана, тонких частиц и т. д. другие немясные ингредиенты во второй порции сжатого газа и инъецировать дисперсию в мясо. Оборудование состоит из двух концентрических труб: внутренняя несет жидкость, наружная – газ. Очевидно, что должен существовать перепад давлений, чтобы диспергировать вещество, т. е. давление жидкости должно быть несколько выше, например на 0,1–0,7 кгс/см<sup>2</sup> по сравнению с давлением газа.

Размер отверстия, через которое жидкость подается в газ, можно изменять в широких пределах. Однако чем оно больше, тем меньшее давление требуется для подачи жидкости с той же скоростью. Можно применять и другие диспергирующие системы, например аспиратор, воздушные отсасывающий или питательный насосы и т. д. Одной иглы достаточно для нескольких целей, однако имеется явное преимущество в применении нескольких игл для введения сжатого газа с диспергированными в нем веществами или без них. Рекомендуется система с 5–7 иглами, действующими одновременно. Иглы представляют собой полые перфорированные трубки с закрытыми концами, чтобы мясо или жир не забивали иглу при вскрытии структуры.

Иглы могут иметь множество отверстий по длине. Однако более равномерным распределение бывает, если отверстия находятся в одной плоскости, нормальной к вертикальной оси иглы. Например, особенно эффективна игла с четырьмя отверстиями, расположенными под углом 90 град. по окружности иглы на небольшом расстоянии от ее конца. Игла должна иметь тупой скошенный ко-

нец, чтобы она проникала между мышечными волокнами, а не разрезала их. Такое строение дает возможность вставлять и удалять иглу, не оставляя постоянных отверстий в мясе. Таким образом, даже после обработки, когда образовалась пористая структура внутри ткани, наружная поверхность останется целой.

Пример 1. Реберный «глазок» массой 1,8 кг консервно–колбасной категории разрезали на 4 равные части. Кусок 1–й заморозили сразу же, он служил контролем. Куски 2, 3 и 4–й обрабатывали размягчающим раствором, содержащим соль, сахар, гидролизованный растительный белок и папаин; количество раствора составляло 5, 10 и 15 г/кг массы (соответственно). Раствор инъецировали в виде дисперсии в азоте, давление которого на выходе из иглы составляло примерно 1,4 кгс/см<sup>2</sup>.

Куски 2, 3, и 4–й заморозили почти сразу же после инъекции. Из всех кусков вырезали бифштексы, подвергали тепловой обработке и давали дегустаторам для оценки нежности и текстуры по произвольной шкале от 1–10:

- 10 – отличный;
- 7–9 – хороший
- 4–6 – достаточно хороший
- 3 – плохой
- 2 – очень плохой
- 1 – неудовлетворительный

Получили следующие результаты указанные в таблице 5.

Таблица 5

Кусок	Количество раствора, г/кг	Нежность	Текстура
1	0	5,3	9,2
2	5	6,1	8,8
3	10	7,7	8,7
4	15	8,0	8,8

Пример 2. Мякоть наружной части задней ноги туши промышленной категории разделяли на 2 части: одна была контролем, а вторую обработали раствором такого же состава, как в примере 1, который вводили в мясо в количестве около 20 г/кг. Инъекцию проводили следующим образом: через иглу пропускали газ азот под давлением на выходе 2,8 кгс/см<sup>2</sup>, иглу полностью вставляли в мясо; в поток газа вводили жидкость, иглу медленно вынимали из мяса, тем самым по всему пути перемещения иглы частицы раствора распылялись в поры, образованные газом при движении иглы вниз (в мясо). Эту процедуру повторяли, вводя иглу из расчета 1 прокол на 2,5 см площади, пока не инъецировали всю поверхность.

Почти сразу после инъекции наблюдалось хорошее и равномерное распределение раствора. При последующей оценке нежность и текстура бифштексов из опытного мяса оказалась хорошей, а бифштексы из контрольного мяса были жесткими и волокнистыми.

Пример 3. Бифштексы (4 шт.) толщиной 3 см вырезали из бескостного филейного края туши промышленной категории. Два из них сразу же заморозили и использовали как контроль. Два других погружали в промышленный ферментный раствор в соответствии с инструкциями изготовителя (1 часть препарата разбавляли 1 частью воды, обработку проводили до увеличения массы мяса на 3 %). Еще 4 таких же бифштекса вырезали из оставшегося мяса. В два шприцевали ферментный раствор с целью обеспечить его равномерное распределение (количество раствора 8 % от массы мяса). Остальные два обрабатывали, как в примере 2, но давление равнялось 7 кгс/см кв. и число проколов было меньше (количество раствора 2% от массы мяса).

Хотя количество инъецируемого раствора было неодинаковым в зависимости от его концентрации и активности фермента, можно добиться желательных результатов, вводя 1–3 % ферментного раствора от массы мяса. В таблице 6 приведены средние баллы органолептической оценки готовых бифштексов по шкале, как в примере 1.

Таблица 6

Вид обработки	Нежность	Текстура	Примечание
Контроль	4,3	9,1	Жесткое мясо
Погружение	6,2	5,6	Поверхность мучнистая
Игольчатое шприцевание	7,9	3,1	Пористые "карманы"
Распыление жидкости вместе с газом под давлением	7,8	8,8	Отсутствие локального чрезмерного размягчения

Для данной обработки пригодны все газы, нетоксичные в применяемой концентрации и неконденсируемые при данных режимах температуры и давления. В большинстве случаев это воздух, азот или другие неактивные газы. Однако иногда можно использовать один или несколько реактивных газов. Например, если требуется пониженная величина рН, можно с успехом использовать СО<sub>2</sub> самостоятельно или в смеси с одним или несколькими другими газами. При обработке соленого мяса можно брать окись азота самостоятельно или в виде смеси с другими газами. Кислород применяют для образования ярко-красного цвета мяса. Ниже приведен пример одновременного достижения двух целей: цветообразование и увеличение нежности мяса.

Пример 4. Толстый филей промышленной категории разделяли на 2 части. Одну обрабатывали раствором протеолитического фермента с применением кислорода под давлением 2,8 кгс/см<sup>2</sup>. Иглы вставляли на поверхности с интервалом 2,5 см. Как опытный, так и контрольный образец сразу же заморозили. После замораживания мясо разделали на бифштексы и предъявили квалифицированным дегустаторам, которые пришли к мнению, что опытные бифштексы имели более приятный и равномерный ярко-красный цвет по сравнению с контролем. Была отмечена пористая структура ткани мяса. После обжарки дегуста-

торы оценили нежность опытных образцов как «хорошую», а контрольных – как «плохую».

Данный способ имеет и другие преимущества. Мясо, обработанное только газом под давлением, имеет пористую внутреннюю структуру, идеально подходящую для сушки. Обработанное мясо можно высушить, например, сублимацией, сохраняя пористую структуру, за период времени, на 20–30 % меньший по сравнению с необработанным мясом. Кроме того, высушенное мясо можно регидратировать опять–таки быстрее на 30 % и более полно. Обработанное газом мясо можно заморозить до исчезновения пористой структуры, после чего нарезать и упаковать в виде потребительских порций.

Такой продукт требует более короткой тепловой обработки (на 25–30 %). Из вышесказанного следует, что на практике желательно сохранить пористую структуру мяса для дальнейшей обработки.

### **2.2.3 Аэрозольные размягчающие препараты**

С.В. Смит, Ц.Е. Нобек и Е.А. Кобин разработали жидкий ферментный препарат, который идеально подходит для диспергирования под давлением с целью увеличения нежности мяса. При изготовлении препарата ингредиенты смешивают, регулируя pH. Обычно сначала растворяют в воде декстрозу, затем подмешивают хлористый натрий, фермент и пропиленгликоль. Соотношение компонентов (вес – объем): 1–44% (лучше 16–32%) декстрозы; 3–17% (лучше 3–5%) хлористого натрия; 5–20% (лучше 5–15%) пропиленгликоля и 1–15% (лучше 2–8%) фермента. Конечную pH доводят с помощью кислого реагента до 5–6; лучше брать органическую кислоту; например молочную, уксусную, бензойную, лимонную и т. п.

Кроме определенных количеств этих основных ингредиентов можно добавлять и другие (необязательные): одновалентный глутамат, ароматизаторы, эфирные масла из чеснока, перца, и т. д. Такой препарат отвечает требованиям, указанным выше, включая идеальное соответствие современным средствам нанесения аэрозолей. Его положительные свойства объясняются взаимозависимостью и взаимодействием специфических ингредиентов и их пропорциями. Пропиленгликоль оказывает хорошее стабилизирующее влияние на препарат. Однако увеличение его содержания снижает активность фермента. В результате повышения уровня хлористого натрия неожиданно снижается стабильность препарата, но его полное исключение имеет неблагоприятный эффект.

Еще один новый фактор, резко ограничивающий количественное соотношение ингредиентов – влияние глюкозы. Глюкозу можно полностью или частично заменять другими углеводами, например лактозой, сахарозой или кукурузной патокой, т. е. гидролитической смесью декстрозы, мальтозы и декстринов. Из имеющихся протеаз протеазы микробного (грибкового или бактериального) происхождения предпочтительнее, так как они размягчают наиболее жесткие части мяса, не давая пористости, не образуя привкусов и сохраняя хорошую текстуру и твердость мяса.

Температуру поддерживают в диапазоне, благоприятном для действия фермента, т. е. 10–50 °С, причем хорошая стабильность наблюдается при 30–

40,5 °С при быстром и эффективном действии фермента на субстрат. Такие препараты можно затаривать в стеклянные, пластмассовые или металлические контейнеры, покрытые внутри эмалью или смолистыми веществами, например поливиниловыми смолами, для недопущения реакции между продуктом и металлом. Банки заполняют нужным количеством жидкого ферментного препарата, затем к буртику банок фиксируют распределительный клапан. В банки вводят соответствующее реактивное вещество под давлением 4,9–9,1 кгс/см кв. Реактивное вещество должно быть инертным по отношению к ферментному препарату.

Это может быть закись азота, углекислый газ, азот, а также соединения типа фторированного углеводорода, (фреона), например трифторхлорометан или октафторциклобутан (все они производятся промышленно под торговым названием «фреон» или «генетрон»), либо смесь различных соединений. Аэрозольный препарат стабилен при длительном хранении без охлаждения, хотя в его производстве не применяют тепловой обработки, кроме того, он ингибирует микробный рост. Аэрозоль – это хороший и удобный метод нанесения на мясо и мясопродукты препаратов для увеличения их нежности.

#### **2.2.4 Добавление трагаканта**

Увеличение нежности мяса растворами ферментов иногда приводит к образованию водянистой, влажной поверхности мяса. Часто ткани, в которые инъецировали фермент, имеют слабую консистенцию, что затрудняет их нарезание на потребительские порции. Другая проблема, встречающаяся с современными системами инъекции ферментов, – избыточное или недостаточное размягчение в результате неравномерного распределения ферментного раствора в мясе.

Для преодоления этих проблем при ферментном размягчении мяса разработан ряд способов, например модификации метода инъекции, размещения игл, давления инъекции. Другой вариант решения этих проблем основан на применении тех или иных связующих веществ. Однако попытки использовать растворы различных камедей и крахмалов создали дополнительные проблемы. В одних случаях растворы становились слишком вязкими и засоряли иглы, их отверстия и коллекторы; в других – ферментный раствор с добавленным связующим веществом густел до такой степени, что не проникал полностью в мышечную ткань. А иногда эти растворы не застывали, не желировали после инъекции в мясо.

Р.Т. Эрл и Л.М. Валд обнаружили, что вышеупомянутые проблемы можно решить, если в ферментный раствор ввести небольшое количество трагаканта – 0,1–0,4 % от массы раствора. Более высокая концентрация, например 1 % и выше, не обеспечивает нужной равномерности тендернизации мяса ферментами. Трагакант – это сухой камеденосный (липкий) экссудат растений рода *Astragalus* вида *Astragalus gummifer*. Он разбухает в холодной воде, образуя вязкий коллоидный раствор, и совместим с белками, углеводами и протеолитическими ферментами. В разбавленном водном растворе он имеет рН 5,6, что эквивалентно натуральному рН мяса.

Введение трагаканта в разбавленный водный раствор протеолитических ферментов создает уникальную комбинацию; такой раствор легко инъецировать в мясо, он равномерно распределяется в нем и застывает в виде твердой матрицы, удерживая естественно присутствующую влагу, соки и белки. Более того, было определено, что нужно инъецировать меньше раствора для достижения такой же степени распределения фермента в мясе, как и при прежних способах. Так, если раньше инъецировали 2,5% раствора от массы мяса, то теперь, после добавления трагаканта, достаточно 2% и даже меньше. Вероятно, фермент и трагакант оказывают синергистическое влияние на размягчение мяса.

Использование трагаканта в названном количестве обеспечивает оптимальное набухание мяса за определенный период времени (около 48 ч) после инъекции, но раствор сохраняет достаточную текучесть, чтобы не допустить засорения игл и коллектора. Считают, что хорошая набухающая способность трагаканта в какой-то мере обусловлена его характеристиками частично сетчатого полимера: только небольшая его часть растворяется вначале, а большая сохраняет свойство скрытой набухаемости. Латентность набухания длительна по времени, и трагакант достигает максимальной вязкости через 48 ч, т. е. к тому времени, когда происходит нужное распределение фермента в процессе хранения в холодильнике.

С одной стороны, было установлено, что другие натуральные камеди (например, гуммиарабик) и модифицированные или синтезированные камеди (карбоксиметилцеллюлоза и натрийкарбоксиметилцеллюлоза) не обладают нужным свойством застывания. С другой стороны, различные камеди, например агаг, гуаровая камедь, камедь карайя и из бобов рожкового дерева, слишком вязкие для традиционного инъецирующего оборудования, а если их разбавить, то они не обладают нужной набухаемостью или застыванием, как трагакант. Следовательно, камеди либо слишком хорошо растворяются в воде и не обладают нужным коллоидообразующим свойством, либо набухают в самом начале за короткий период времени до такой вязкости, которая отрицательно влияет на давление инъекции в коллекторе для игл и на последующее распределение фермента в тканях мяса.

Вследствие синергистического действия фермента и трагаканта ферментсодержащий раствор равномерно распределяется в мышечной ткани, так что не допускается излишнее или недостаточное локальное размягчение. Инъецированное таким препаратом мясо является более твердым и неводянистым, не содержит экзомышечных карманов с ферментным раствором.

В случае инъекции в тушу до посмертного окоченения лучше удерживаются натуральная влага и сок мяса в тот период, когда парное мясо выдерживают в холодильнике, чтобы произошли все послеубойные изменения, связанные с остыванием мяса, посмертным окоченением и выравниванием мышечного тонуса. Количество потерянной влаги при охлаждении приблизительно эквивалентно количеству добавленной влаги во время инъекции фермента. После испарения избытка влаги в первые 48 ч охлаждения трагакант достигает максимальной набухаемости и задерживает потерю естественной влаги и сока мясом при последующем хранении.

Более того, при хранении в витринах розничных магазинов мясо теряет меньше влаги, сокращается сокоотделение в упаковках, а тем самым улучшается товарный вид мяса. Облегчается разделка и обвалка мяса, обработанного раствором ферментов с добавленным трагакантом; без такой обработки мышцы являются слабыми, их трудно разделявать и обваливать.

Среди других преимуществ – улучшение вкусовых качеств мяса после варки или обжарки вследствие хорошей влагоудерживаемости, повышение питательности вследствие лучшего связывания белков в мясе в начале периода охлаждения туши и в процессе тепловой обработки. Вместе с трагакантом можно применять разные протеолитические ферменты растительного, животного, грибкового и бактериального происхождения: папаин, бромелин, фицин, пепсин, трипсин, химотрипсин из грибов *Aspergillus niger*, *Aspergillus oryzae* и др., бактериальные протеазы из *Bacillus subtilis*, *Bac. mesentericum* и т.п. Предпочтительным ферментом является папаин из латекса тропического растения *Carica papaya* L. Раствор папаина или другого протеолитического фермента должен иметь активность около 0,01–0,05 молокосвертывающих единиц на 1 г раствора. Протеолитическую активность папаина в таких единицах определяют методом Болла и Гувера, модифицированным Хинкелем и Алфордом.

#### **2.2.5. Инактивация ферментов посредством углекислого газа или кислорода под высоким давлением**

При обработке мяса протеолитическими ферментами часто происходит его чрезмерное размягчение. Ж.Л. Шанк разработал способ инактивации фермента в мясе воздействием  $\text{CO}_2$  или  $\text{O}_2$  под повышенным давлением в течение достаточно большого периода времени. Нужные результаты получают обработкой *in situ* ферментсодержащих тканей животного газом  $\text{CO}_2$  или  $\text{O}_2$  под повышенным давлением.

Мясо, обработанное ферментами, например папаином, бромелином, фицином или катепсином, измельчают или нарезают на кубики или ломтики толщиной 0,3–5 см (лучше 0,9–2,5 см). Затем мясо помещают в барокамеру, куда подают газ до создания давления 5,2–84,3 кгс/см<sup>2</sup>. Мясо выдерживают в такой атмосфере в течение 0,5–72 ч, после чего фермент практически теряет свою активность.

На практике рекомендуется создавать давление газа 14–84,3 кгс/см<sup>2</sup> при продолжительности обработки 2–8 ч. Разумеется, понятно, что чем ниже давление, тем продолжительней обработка, и наоборот.

Пример 1. Животному перед убоем инъецировали фермент. Куски мяса толщиной 2,5 см из туши такого животного помещали в атмосферу  $\text{CO}_2$  под давлением 8,4 кгс/см<sup>2</sup> на 6 ч. Величина рН такого мяса равнялась 4,8. Результаты сравнивали с данными, полученными при обработке аналогичных кусков мяса, заключавшейся в снижении их рН до 4,8 с помощью молочной кислоты и в применении инертного газа, например азота, для создания давления 8,4 кгс/см<sup>2</sup>.

Результаты показывают, что уменьшение активности фермента нельзя объяснить только величиной рН или давлением.

Пример 2. Проведены эксперименты для определения влияния давления и продолжительности выдержки на мясо с предубойно инъецированным фермен-

том и обработанное CO<sub>2</sub>. Как критерий определения твердости мяса служило усилие среза в кгс/см<sup>2</sup>. (табл. 7).

Таблица 7

Образец	Продолжительность обработки, мин	Давление газа, кгс/см кв	Усилие среза, кгс/см к
1	120	8,4	2,6
2	120	14,0	3,0
3	120	21,0	3,5
4	90	5,2	2,3
5	30	5,2	2,1
Контроль			1,4

Пример 3. Эксперименты проводили для определения влияния давления газа и продолжительности выдержки на мясо с предубойно инъецированным ферментом и обработанное O<sub>2</sub> (табл. 8).

Таблица 8

Образец	Продолжительность обработки, мин	Давление газа, кгс/см кв.	Усилие среза, кгс/см кв.
1	60	77,3	3,7
2	30	77,3	2,8
3	60	56,2	2,6
4	10	56,2	1,6
5	10	21,0	1,8
Контроль			1,2

### 2.2.6 Кусковое мясо с размягченной серединой

В.Р. Щак и Ф.О. Коник создали метод получения кускового мяса для использования в производстве кулинарно обработанных мясопродуктов, например тушеной говядины, бефстроганова, пирогов с консервированным фаршем, говяжьего гуляша и т.п. Куски мяса имеют относительно твердую поверхность, выдерживающую различные виды обработки, и одновременно нежные.

Этого можно добиться диспергированием в мясо таких протеолитических ферментов, как панаин, бромелин, фнцин, трипсин или их смеси, с последующим дезактивированием этих ферментов у поверхности кусков мяса; после этого фермент, находящийся в середине кусков, активируют. Полученный таким образом продукт имеет размягченную середину, но достаточно твердую поверхность, стойкую в обработке и хранении.

Данный метод заключается во введении протеолитического фермента в сортовой отруб мяса любым удобным способом, например шприцем, с помощью газа-носителя, накачиванием поверхности мяса и погружением мяса в

раствор фермента, чтобы последний проник вовнутрь его, и т. д. Количество вводимого фермента зависит от нужной степени размягчения, вида мяса, исходной жесткости мяса. Однако было установлено, что оно должно, по крайней мере, составлять 0,002 мг/кг мяса.

После введения фермента необходима некоторая выдержка для равномерного распределения его в мясе. Продолжительность выдержки зависит от многих факторов, например от количества инъецированного фермента, размера сортового отруба мяса, степени диспергирования фермента в мясе и т.д. Вероятно, наиболее важным является температура мяса в момент инъекции. Определили, что при температуре мяса 26,6 °С продолжительность выдержки составляет всего около одного часа, но чем ниже температура, тем длительнее выдержка; например, при 7,2 °С – около 4 ч, при минус 1,1 – плюс 4,4 °С – около 24 ч.

После того как фермент диспергировали в мясе, его нарезали на куски любой формы – кубики, полоски, ломтики, брикеты, ломти и т. д. Установили, что размер кусков должен быть, по крайней мере, 60 см (по стороне). Желательно, чтобы на нарезание производили при температуре мяса минус 3,3 – 0 °С.

Следующая стадия – селективная дезактивация фермента в наружном слое мяса на достаточную глубину, так что этот слой станет защитным покровом для всего куска мяса. Дезактивацию можно осуществлять регулированием температуры мяса до такого уровня, при котором фермент теряет активность. Регулировать можно любым методом поверхностного нагрева, например погружением кусков мяса в кипящую воду. Продолжительность и температура такой обработки непостоянны и прямо зависят от вида фермента и его концентрации.

Общепринятая температура активности протеолитических ферментов 36,6–85 °С, причем каждый фермент имеет свою оптимальную температуру. Например, у папаина 65,5–85 °С, у бромелина 60–71,1, у фицина 60–76,6, у трипсина 29,4–46,1 °С. При температуре выше оптимальной фермент теряет активность.

Чтобы куски мяса обладали требуемыми физическими характеристиками, защитный наружный слой, в котором фермент инактивирован, должен иметь глубину, по крайней мере, 0,15 см с каждой стороны. Следовательно, температура обработки мяса должна быть достаточной, чтобы повысить температуру всего наружного слоя куска мяса до такого уровня, при котором фермент инактивирован, т. е. она должна быть выше оптимальной.

Куски мяса, в середине которых находится активный протеолитический фермент, а на поверхности – инактивированный, надо хранить в замороженном состоянии.

Наконец, фермент внутри мяса следует активировать, чтобы размягчить мясо. Это делают, регулируя температуру в центре куска, доводя ее до оптимальной и поддерживая на этом уровне до тех пор, пока не будет достигнута достаточная степень тендеризации, а минимум до балла 6 по шкале, где 1 – жесткое мясо, а 10 – слишком мягкое, пористое.

Как только внутренняя часть мяса будет достаточно размягчена, следует как можно быстрее инактивировать фермент, не оказывая неблагоприятного воздействия на поверхность мяса. Это делают любым традиционным методом нагревания, включая микроволновый.

Пример. Папаин (4 мг на 1 кг мяса) ввели в свежую говядину с мякотного края шейной части (категории «нютилити») с помощью газа  $N_2$ , мясо выдерживали в течение 20 ч. Затем температуру мяса довели до минус 4,4 – минус 1,1 °С и нарезали его на кубики размером около 2,5 см Их помещали в баню с кипящей водой на 4 мин для подогрева поверхности (на 0,15–0,31 см) до 99 °С, а внутренних слоев до 65,5–82,2 °С. Затем кубики вынимались из кипящей воды и помещали, в воду температурой 82,2 °С на 1,2 ч.

После такой обработки кубики смешивали с другими мелкоизмельченными продуктами в подливе, смесь быстро нагревали до температуры свыше 99 °С и выдерживали более 15 мин для практической дезактивизации всего фермента. Затем продукт охладили примерно до 54 °С (т.е. до температуры потребления). Нежность этого мяса по 10–балльной шкале оценили в 8–9 баллов (1 – жесткое, 10 – пористое, слишком мягкое). Наружный слой примерно 11,15 см) имел прекрасную консистенцию.

### 2.2.7. Сбалансированная активность папаина и бромелина

Р.Б. Слет и Ж.Ф. Кампбел открыли, что чрезмерного размягчения мяса и образования слизеподобного слоя можно избежать и добиться равномерного размягчения, используя папаин и бромелин в солевом растворе, в котором их активность сбалансирована. Папаин эффективен в отношении мышечных белков, а бромелин – в отношении коллагеновых тканей, например мышечных пленок, сухожилий и т. д.

Протеолитическая активность промышленного препарата папаина вдвое превышает активность бромелина на единицу массы продукта. Балансируя протеолитическую активность обоих ферментов в солевом растворе, добиваются равномерного размягчения кусков мяса при сохранении отличного вкуса. Такой препарат не оказывает отрицательного влияния на естественно присутствующие в мясе ферменты. Содержание NaCl в растворе может существенно колебаться – от 8 до 12% от массы раствора, наилучшие результаты получают при 9%. Такая концентрация соли не ухудшает вкуса продукта и, как установлено, очень эффективно предотвращает сокоотделение и усадку.

Наилучшие результаты были получены при содержании бром едина вдвое выше, чем папаина (соответственно 0,0040– 0,0410 и 0,0020–0,0210% от массы раствора). Рекомендуются, как оптимальный, диапазон уровня бромелина 0,0056–0,0392% и уровня папаина 0,0028–0,0196%. В каждом растворе содержание бромелина в два раза больше, чем папаина.

Раствор, подогретый до 37,7 °С, инъецируют в холодные отрубы (с температурой 1,6–4,4 °С) либо в парные туши или струны (с температурой около 40–40,5 °С). Для инъекции можно применять любое подходящее устройство, пред-

почтительно с полыми иглами, по всей длине которых сделаны отверстия. Когда иглу вставляют в мясо, раствор подается через эти отверстия по всей длине иглы. Для быстроты можно использовать сразу множество игл, которые питаются от одного патрубка, так что одновременно инъецируется значительная часть отруба или куска. Давление инъекции зависит главным образом от размера или массы мяса и может быть 5,2–12,3 кгс/см кв. Например, в небольшой кусок говядины массой 4,5 кг раствор вводят под давлением 5,2 кгс/см кв., а в отрубы массой 45,3 кг – под давлением 12,3 кгс/см кв.

Количество инъецируемого раствора, содержащего соль, бромелин и папаин, изменяется от 2 до 3,5% от массы раствора в зависимости от массы мяса (оптимальной считается доза 3%). В качестве примера пропорций отдельных компонентов можно привести следующий состав (в %): соли – 9, бромелина – 0,0056; папаина – 0,0028; воды – 91%.

### **2.2.8. Фермент, комплексообразующее вещество и крахмал**

Текстуральные свойства измельченного или нарезанного мяса улучшают, а потерю влаги и усушку уменьшают, используя комбинацию из комплексообразующего вещества, немодифицированного неклеистеризованного восковидного крахмала и протеазы. Состав такого препарата, разработанный Д. Жакобиным и Р.Ж. Веролдым состоит из 1–7 весовых частей комплексообразующего вещества (предпочтительно натрийтриполифосфата), 1–7 весовых частей крахмала (предпочтительно немодифицированного, воскообразного, содержащего более 50% амилопектина по сухому веществу); 0,0004–0,004 весовой части протеазы (предпочтительно очищенного высокоактивного папаина, активность которого эквивалентна 3,9–7,8 мг тирозина на 100 мл).

Использование комплексообразующего реагента улучшает влагоудерживающую способность котлет и других фаршевых или кусковых мясопродуктов и снижает их усадку при тепловой обработке. Уменьшая потерю влаги и тепловую усадку, такой реагент улучшает текстуру продукта. Можно использовать любые физиологически безопасные комплексообразующие вещества, которые действуют как пассиваторы. Рекомендуется натрийтриполифосфат.

Желательно использовать натрийтриполифосфат, который незначительно повышает температуру при растворении, так как хорошо растворяется в воде. Рекомендуемый натрийтриполифосфат повышает температуру на 6–8 С. Превосходные результаты можно получить, используя немодифицированный восковидный крахмал, содержащий более 50% амилопектина (по сухому веществу). Такой крахмал называют амилопектиновым. (Методы определения содержания амилопектина в крахмале и муке указаны в книге Ральфа У. Керра «Химия и производство крахмала», 2-е изд., 1950, с. 676–678.) Пригодным крахмалом или мукой, содержащей его, являются пшеничный, кукурузный, сладкий восковидный рисовый и др. Рекомендуется крахмал из кукурузы «amiosa», содержащий 100% амилопектина (по сухому веществу). Использование восковидных немодифицированных крахмалов с высоким содержанием амилопектина в сочетании с комплексообразующим реагентом гораздо больше увеличивает

влагоудерживающую способность и улучшает вкус, сочность и текстуру, чем только крахмал или только комплексообразующий реагент. Органолептические свойства мяса можно также улучшить путем добавления протеолитических веществ – одной из протеаз, лучше всего папаина. Активность протеазы должна быть эквивалентна 3,9–7,8 мг тирозина на 100 мл.

Активность определяют сопоставлением ультрафиолетового поглощения раствора, образовавшегося при реакции 5 мл 1%-ного казеина в водном субстрате с 1 мл раствора папаина, содержащего 0,1 мг папаина, в течение 15 мин при 40 °С и дезактивированного 5 мл депротеинизирующего вещества, и опытного раствора тирозина в 100 мл воды. Таким образом, подходящий папаин – этот тот, ультрафиолетовое поглощение которого эквивалентно ультрафиолетовому поглощению тирозинового раствора в концентрации 3,9–7,8 мг тирозина на 100 мл. Присутствие всех трех компонентов обеспечивает более низкую потерю влаги. Наиболее предпочтительный состав смеси (в г) приведен в таблице 9.

Таблица 9

Натрийтриполифосфат (содержащий 56–58 % P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> )	4,54
Неклейстеризованный, немодифицированный, восковидный кукурузный крахмал (влагосодержанием 8–12%)	4,54
Очищенный фермент папаин	0,0023

К этой смеси можно добавить соль (3–5 г), сахар (1–2 г) и пищевой краситель. Вышеупомянутую сухую смесь достаточно соединить с 454 г сырого котлетного фарша. Можно также добавлять воду (10–120, а лучше 45–75 мл). Естественно, при наличии большего количества фарша содержание компонентов смеси умножают на соответствующий коэффициент.

### 2.2.9. Ферментно–жировые препараты

М.С Баум и Ф.Р. Морео создали препарат для обработки мяса, в результате которой увеличиваются нежность, влагосодержание и мраморность мяса низших сортов. Препарат состоит из следующих ингредиентов:

1) чистого, процеженного топленого жира (говяжьего, бараньего, свиного, телячьего или растительного);

2) препарата протеолитического фермента в жидком растворе, который смешивают с жиром. Одним из таких препаратов является смесь хлористого натрия, сахара, растительного фермента, например бромелина, ароматизатора и набора приправ; (однатриевого глутамата, дрожжей, карамели и гидролизованного растительного белка) в количестве 46, 37,1 и 16% (соответственно);

3) очищенной воды (очистка нужна для избежания попадания посторонних ароматических или минеральных веществ).

Она служит носителем протеолитического фермента в растворе, а когда ее смешивают с жиром и поддерживают в охлажденном состоянии, обеспечива-

ет консистенцию маргарина. Поскольку все жиры должны быть обработаны консервантом, его следует добавлять в этот раствор, основное требование: препарат следует готовить так, чтобы смесь сохранялась в любом состоянии (замороженном, охлажденном или жидком) до момента инъекции в мясо. Нижеследующий процесс изготовления препарата отвечает всем указанным требованиям. Используемый жир тонко измельчают, помещают в котел из нержавеющей стали или алюминия и доводят до кипения. Когда температура жира становится высокой, его процеживают в чистую тару и выдерживают в ней до остывания (примерно до 43 °С), после чего в жидкий жир добавляют консервант в количестве, обусловленном государственными стандартами. 28,3 г смеси протеолитических ферментов, упомянутой выше, смешивают с 1,13 кг холодной очищенной воды. Перемешивание продолжают до полного растворения, а раствор выдерживают примерно 5 мин. Затем 1,13 кг процеженного, очищенного топленого жира температурой около 43,3 С помещают в мешалку: она вращается на небольшой скорости примерно 1 мин, затем скорость увеличивают и быстро вливают водный раствор фермента (около 1,13 кг). Высокоскоростное перемешивание продолжают еще 30 с и получают препарат с хорошо перемешанными ингредиентами и консистенцией влажного маргарина.

Чтобы препарат не расслоился и не испортился, его можно хранить в холодильнике при 3,3–5,5 °С или заморозить с целью транспортировки. Если к моменту инъекции препарат находится не в жидком состоянии, его постепенно подогревают до 43,3 °С при постоянном встряхивании. В результате смесь разжижается. Инъекцию рекомендуется проводить методом игольчатого шприцевания.

Давление зависит от размера иглы, как правило, оно равно 2,8–4,2 кгс/см кв. Дозу препарата регулируют в соответствии с государственным законодательством. Обычно допустимые пределы приближаются к 1 части препарата на 5 эквивалентных частей мяса. Так как мясо охлаждено, то после введения разжиженного препарата, имеющего повышенную температуру, жир застывает в месте инъекции. Вода служит носителем протеолитического фермента. Давление в момент инъекции диспергирует эту жидкость по всему куску обрабатываемого мяса. Препарат предназначен для обработки главным образом говядины «Консервная», «Колбасная» и «Ютилити», но он пригоден и для обработки любого вида мяса. После обработки получают мясо с качественными показателями категорий «отборная» или «прима»; в процессе нагревания жир удаляется, а мясо сохраняет показатели нежности, влагосодержания и вкуса указанных категорий. Поскольку «мраморность» сырого мяса была инъецирована, а не образовалась в мышечной ткани естественно, то при температуре тепловой обработки жир плавится и выходит из мяса, оставляя лишь свой вкус, а мясо возвращается к своему исходному низкому жиросодержанию.

#### **2.2.10. Ферменты с основными солями пирофосфата**

С.Л. Комарик обнаружил, что нежность свежего мяса (говядины, свинины, ягнятины и баранины) можно значительно увеличить, введя в него небольшое количество нетоксичной, физиологически приемлемой, основной соли пи-

рофосфата. Нежность мяса увеличивается на протяжении 24-часовой выдержки в холодильнике, после этого фермент не действует и не делает текстуру мяса пористой.

Водорастворимые, нетоксичные, физиологически приемлемые неорганические фосфаты (за исключением основных солей пирофосфата) не увеличивают в такой степени нежность мяса, как обработка основной солью пирофосфата. К основным солям пирофосфата относятся пирофосфаты тетрацелочных металлов, например тетранатриевые и тетракалиевые. Кислые пирофосфаты щелочных металлов непригодны для увеличения нежности мяса, но могут быть использованы в качестве добавки для регулирования рН. Основную соль пирофосфата можно применять в сухом или жидком виде. В сухом виде пирофосфат наносят непосредственно на мясо распылением, либо пропускают мясо над поддоном с порошкообразным пирофосфатом или обеспечивают контакт с пирофосфатом. Чтобы добиться хорошего распределения пирофосфата на мясе, его можно предварительно смешать с носителем или разбавителем, например сахаром или солью. Самый желательный способ занесения основного пирофосфата на мясо – погружение его в водный раствор основного пирофосфата. Однако этот раствор можно разбрызгивать или распылять на поверхности мяса. С фосфатами можно смешивать другие вещества, например соль и ароматизаторы (глутамат натрия и др.), и наносить их на мясо одновременно.

Количество пирофосфата, наносимое на мясо, не является критическим. Однако нет необходимости, чтобы оно превышало 5 г на 1 кг мяса, так как эта величина или даже меньшая обеспечивает пужную степень нежности. Если мясо очень жесткое, можно брать 5–7,5 г на 1 кг, причем привкуса в мясе не наблюдается. Рекомендуемый минимум равен 1,5 г на 1 кг мяса, но в настоящее время предпочитают 2,5 г на 1 кг. Размягчающее действие основного пирофосфата на мясо – проявляется значительно медленнее по сравнению с протеолитическими ферментами. Обработанное мясо не следует замораживать и сразу же подвергать тепловой обработке, так как нет опасности чрезмерного размягчения. Достаточно просто хранить мясо в обычном холодильнике, не принимая специальных мер предосторожности. При такой температуре мясо сохраняют 5–7 сут.

Для достижения осмотического действия пирофосфата, рекомендуется не подвергать мясо тепловой обработке, по крайней мере, в течение 6 ч, а лучше до 16 ч и более после обработки. Более толстые куски мяса (свыше 2,5 см) хорошо размягчаются за 16–24 ч в холодильнике с температурой 0–5,5 С.

Было установлено также, что мясо можно обрабатывать основным пирофосфатом и небольшим, но эффективным количеством протеолитического фермента одновременно или последовательно, чтобы увеличить нежность мяса, при этом нет необходимости сразу же после обработки замораживать куски мяса, чтобы сохранить его. Обработанное таким образом мясо можно хранить в обычных холодильниках, не принимая особых мер предосторожности, и при этом мясо не становится пористым, но его нежность повышается. В результате осмотического действия пирофосфата протеолитический фермент распространяется по мясу и действует не только на его поверхность.

Различные протеолитические ферменты используют в сочетании с основными пирофосфатами, но предпочтительным является папайи. Требуемое при этом количество фермента зависит от его вида, протеолитической активности (т. е. чистоты и концентрации) и от вида и категории обрабатываемого мяса. Если взять слишком много фермента, то мясо станет непригодным для потребления человеком, так как обработанное мясо обычно предназначено для хранения в охлажденном виде. Количество протеолитического фермента, в частности папаина, не должно выходить за пределы 0,5–44 мг на 1 кг мяса, а лучше всего 6–22 мг.

Куски мяса, обработанные пирофосфатом и ферментом, можно хранить в холодильнике (с температурой 0–5,5 °С) в течение 1–7 сут без ущерба для качества мяса. Данный процесс особенно пригоден для улучшения качества (определяемого нежностью) отрубов говядины. Обработка говядины пирофосфатами повышает ее качество на одну категорию. Так, сортность мяса консервной категории повышается до промышленной, промышленной – до отборной, а отборной – до категории А–1. Для размягчения говяжьих отрубов погружением в раствор используют препарат следующего состава (в г) приведен в таблице 10.

Таблица 10

Глицерин	198,1
Пропиленгликоль	431,5
Гетранатриевый пирофосфат	99,0
Калий–тетранатриевый пирофосфат	403,3
Однатриевый глутамат	60,1
Казеиново–пшеничный гидролизат	60,1
Папаин (3800 ГЕ/г)	0,3
Вода	до 3,8

Мясо, погруженное в такой раствор, поглотит 0,9–2,7 кг раствора на 1 кг мяса (в зависимости от вида и возраста животного, продолжительности погружения, толщины кусков и вязкости раствора). Аналогичный препарат можно получить из тех же ингредиентов, но при увеличении содержания папзина до 10 г.

Вследствие повышенной нежности отрубов, обработанных основными пирофосфатами в сочетании с протеолитическими ферментами, из обработанной говядины низкой категории (ниже промышленной) можно изготовить многие готовые блюда с улучшенными вкусовыми качествами, например говяжье жаркое, пироги, бифштексы по–швейцарски, жаркое в горшках, а также студень из мяса, риса и говяжьего жира. Такой обработкой можно также пользоваться в производстве консервов высшего качества из несоленого мяса. Обычно для этого берут говядину консервной или колбасной категории, и, хотя мясо делают съедобным посредством высокотемпературной обработки, оно все же остается

волокнистым. Мясо, обработанное только основными пирофосфатами или в сочетании с ферментами, становится более нежным и менее волокнистым после переработки на консервы. При всех этих преимуществах мясо не приобретает привкусов или посторонних запахов.

### 2.2.11. Ферменты с высшими фосфатами натрия

Х. Шлех и Р.С. Арнолд создали размягчающий препарат, который легко инактивируется после окончания процесса размягчения мяса. Препарат включает бактериальную протеазу и высший фосфат натрия.

Бактериальная протеаза в сочетании с высшим фосфатом натрия и после введения в мясо обеспечивает пужную степень размягчения, не допуская чрезмерного воздействия, а, следовательно, и опасности непоправимой порчи продукта. Один из источников такой протеазы – бактерии рода вида *Bacillus subtilis*. Ее количество также зависит от вида используемого фосфата. Можно применять триполифосфат, пирофосфат, гексаметафосфат или тетрафосфат натрия отдельно или смесь нескольких из них. Общее содержание фосфата или фосфатов составляет 2–3% (предпочтительно 2,5–3,5%) от массы раствора.

При шприцевании в мясо рекомендуется применять раствор, содержащий количество протеазы, эквивалентное протеазному числу примерно 0,13 ед./г, хотя в некоторых случаях желательно использовать вещества с протеазным числом всего лишь 0,01 или даже 0,70 ед./г. С другой стороны, при погружении мяса в раствор рекомендуется препарат с протеазным числом примерно 1,50 ед./г, но иногда растворы с протеазным числом 0,5 или 2,5 ед./г. Термин «протеазное число» означает здесь протеолитическую активность ферментного препарата. Для четкости можно сказать, что протеазное число 1,66 ед./г соответствует такой степени активности фермента, при которой за 1 ч при 37 °С эффективно снижается на 50% исходная вязкость 250 г 14%-ного раствора желатина с рН 8,0–8,4. Папайн, бромелин и фицин не инактивируются заметно высшими фосфатами и, следовательно, непригодны для обработки мяса, предназначенного для посола и копчения, так как часто приводят к чрезмерному размягчению.

Неравномерность размягчения существенно задержала разработку ферментных процессов обработки окороков и других соленых мясопродуктов. В результате большинство продуктов из свинины обрабатывают без применения фосфатов, а посредством их копчения и варки до высокой температуры в толще окороков. Однако такие способы имеют недостаток: происходят большая усушка и потери массы, часто до 8 % и более по сравнению с исходной массой окорока. Используя ферментный препарат, можно обрабатывать окорока традиционно до температуры внутри продукта 61,6 °С. Температура ниже 61,6 °С не совсем безопасна вследствие возможного выживания паразитов в мясе во время обработки. Достижение температуры 61,6 °С делает окорока совершенно безопасными для потребления человеком, а потери массы и усушка не так велики, как при традиционной обработке окороков до внутренней температуры 67,7 °С. Бактериальную протеазу смешивают с рассолом, содержащим хотя бы один высший фосфат натрия. Типичный состав рассола приведен в таблице 11.

Таблица 11

Компонент	Содержание, частей
Грипофосфат натрия	2,8
Хлористый натрий	10,7
Сахароза	2,8
Декстроза	8,5
Нитрит натрия	0,2
Нитрат натрия	0,6
Изоаскорбинат натрия	0,04
Протеаза из <i>Bacillus subtilis</i>	0,2
Вода	74,16

Рассол можно шприцевать в мясо до увеличения массы мясопродукта на 10–12%. После игольчатого или артериального шприцевания рассола мясо можно укладывать в сетчатые мешки и подвешивать на рамы при комнатной температуре (15–21 °С) на 8–12 ч. Одним из преимуществ данного процесса является то, что бактериальная протеаза обеспечивает ускоренное распределение рассола в мясе, устраняя необходимость погружения мяса в рассол. Затем мясо либо традиционно коптят в коптильной камере в течение 10–14 ч, либо запекают, либо варят в горячей воде или обрабатывают паром, в результате чего окорока теряют массу не более чем до исходной, и по нежности аналогичны окорокам, обработанным без использования фермента до внутренней температуры, по крайней мере 67,7 °С.

### 2.2.12 Ферменты с нелинейными фосфатами в солевом растворе

В. Деланей установил, что обработка свежего мяса водным раствором, содержащим пиро- или полифосфаты щелочных металлов (или другие нелинейные фосфаты), обычную соль и небольшое количество протеолитического фермента, приводит к заметному и относительно равномерному размягчению без чрезмерного локального размягчения. Более того, оказывается, что во многих случаях количество протеолитического фермента, необходимое для достижения такого размягчения, в солевом растворе нелинейных фосфатов бывает меньше (а иногда и значительно) по сравнению с тем, которое требуется при размягчении мяса промышленными препаратами протеолитических ферментов. Простые линейные фосфаты неэффективны, а эффективными являются пирофосфаты щелочных металлов (например, тетрактриевый и тетракалиевый пирофосфаты), а также полифосфаты щелочных металлов.

Эффективным являются также молекулярно дегидратированные фосфаты с молярным соотношением  $R_2O:P_2O_5$  не более 1,7:1, где R берется из группы, состоящей из водорода, щелочного металла и аммония. Однако пирофосфаты из них являются особенно эффективными. В тех случаях, когда нелинейные

фосфаты недостаточно растворимы в рассоле, их растворимость можно увеличить включением линейных фосфатов, например однонатриевого фосфата.

Соотношение ингредиентов не является постоянным, но хороших результатов добиваются при следующем составе: 34–43 кг соли, 4,5–1,3 кг нелинейного фосфата или смеси фосфатов и 0,014–0,9 кг (а лучше 0,113–0,9 кг) или более протеолитического фермента или смеси ферментов. Такой препарат обычно используют в соотношении 0,06–0,24 кг/л воды.

Температура инъецируемого в свежее мясо раствора может быть комнатной или чуть выше, но рекомендуются более низкие температуры – порядка 3,3–6,6 °С. Продолжительность погружения или контакта (при орошении или шприцевании) неодинакова во всех случаях, но рекомендуется период от нескольких секунд до нескольких минут (5–7 мин); обычно на практике контакт длится 15, 30, 45 или 60 с. Этот метод особенно хорош для увеличения нежности говядины, но его можно применять и к другим видам мяса: ягнятине, свинине, куриному и мясу других видов птицы.

### **2.3. Ускоренные методы созревания при повышенной контролируемой температуре**

При нормальном созревании мясо хранят в охлаждаемом помещении при температуре 1–2 °С в течение достаточного периода времени, чтобы присутствующие в мясе ферменты размягчили его. При такой температуре активность ферментов задерживается, и минимум 3 недели требуется для процесса размягчения, низкосортное мясо за это время едва успевает достичь необходимой степени нежности. Ограничивающими факторами естественного созревания являются опасность микробного роста и чрезмерная порча мяса, а также потребность в больших производственных площадях. Естественное ферментативное размягчение можно ускорить, повысив температуру. Однако при этом одновременно увеличиваются весовые потери в результате высыхания и скорость микробного роста. Следовательно, этот процесс должен осуществляться в контролируемых условиях. На протяжении многих лет мясо подвешивали в цехе и выдерживали при контролируемой температуре, чтобы присутствующие в мясе ферменты вызвали химические изменения в нем и размягчили. В обычной практике мясного производства животное убивают и тушу разделывают, температура внутри говяжьей туши при этом равна 40,5 °С. Затем разделанные туши помещают в остывочную камеру до уменьшения температуры в толще бедра до 7,2–15 °С; для этого требуется 24–32 ч в зависимости от размера туши. Главная цель такого предварительного охлаждения – не допустить закисания костей. Действие ферментов ускоряют повышением температуры мяса, а рост поверхностных бактерий ингибируют ультрафиолетовым облучением, причем предпочтительной температурой воздуха в цехе является 19,5–20 °С. Мясо, потеряв много влаги, теряет и качество, и, чтобы не допустить потери влаги в атмосферу цеха, необходимо поддерживать относительную влажность воздуха на уровне 80–90 %, а лучше всего около 90 %. Такие условия – относительно высокая температура и относительно высокая влажность порождают следующую

проблему: когда остывшие туши помещают в относительно теплую и влажную атмосферу цеха, влага из атмосферы будет конденсироваться на поверхности туш. Это увеличивает возможность роста бактерий и других микроорганизмов и, кроме того, выщелачивает часть твердых веществ сыворотки из красного мяса, способствуя тем самым образованию темных пятен или штрихов при испарении влаги.

### **2.3.1 Отрубы, упакованные под вакуумом**

Причиной разрушения клеточной структуры ткани мяса характерной для процесса созревания, или размягчения является действие естественно присутствующих ферментов, контролируемое двумя основными факторами: временем и температурой. Х.Г. Камерон создал процесс, при котором действие ферментов в свежем красном мясе намного ускоряется с повышением температуры; одновременно рост бактерий и плесени ингибируют упаковкой отрубов мяса под вакуумом.

При осуществлении этого процесса охлажденное свежее мясо бескостное или на костях, например через 3–5 сут. после убоя, разрезают на отрубы высшего и низшего качества. Каждый отруб затем укладывают в пакеты из прозрачной усадочной полимерной пленки сарап (облученного полиэтилена двухосного растяжения) или из другой аналогичной пленки. Пакеты вакуумируют, перекручивают и зажимают клипсами, после чего подвергают усадке на мясе кратковременным погружением в горячую воду с температурой около 93 °С. Возможный диапазон температуры воды 88–99 °С, оптимальный 90–93 °С. После этого пакеты с мясом укладывают в боксы или камеры с температурой 15–20 °С на 24–48 ч до доведения температуры мяса внутри и снаружи до 15–20 °С. Затем продукт подвергают воздействию низких температур (от минус 9 до минус 29 °С) в той же или другой камере до периода подмерзания поверхности на глубину 3 см.

Поскольку разные виды мяса требуют неодинаковой продолжительности холодильной обработки, ее нельзя указать точно, но она относительно кратковременна, и обычно ее недостаточно для доведения температуры внутри мяса до 5 °С. Очевидно, такое отставание в изменении температуры внутри и на поверхности обусловлено главным образом толщиной мяса. Обычно для образования подмороженного слоя на поверхности требуется 15–45 мин.

Упакованное мясо после удаления из камеры имеет внутреннюю температуру выше 5 °С. Отрубы хранят в холодильнике с температурой 2–5 °С, откуда они могут поступать на отгрузку. Охлаждение после ускоренного созревания можно производить в обычном холодильнике при температуре от минус 1 до +5 °С.

Подмораживание на поверхности имеет экономические преимущества вследствие сокращения времени холодильной обработки; кроме того, продукт становится твердым, его можно скорее окончательно упаковать в картонные коробки для хранения или отгрузки в торговую сеть. Вся эта обработка занимает 36 ч в сравнении с традиционным процессом созревания и размягчения (10–

21 сут). На протяжении всей обработки исходный вакуум не нарушается, продукт имеет хороший товарный вид и высокое качество. Кроме того, обработанное таким образом мясо хранится 14 сут. и более, что также очень важно.

### 2.3.2 Контролируемая атмосфера

К. Бедрозин и Д.Л. Робах разработали способ, позволяющий размягчать сортовые отрубы и мясо в тушах при такой температуре, которая способствует естественному ферментному размягчению, но ингибирует рост бактерий, плесеней, дрожжей и т. п. посредством контроля содержания  $O_2$  и  $CO_2$  в атмосфере.

Высокая относительная влажность снижает усушку мяса. При данном способе, когда туша остыла, мясо выдерживают в незамороженном состоянии при 0–18 °С и относительной влажности 90–100 %. Практическим диапазоном температуры является 7–13 °С, а срок выдержки – 4–14 сут., но иногда он доходит до 18 сут. Удовлетворительные результаты получены при 0–7 °С в течение 2–14 сут. При более низкой температуре мясо выдерживают дольше, и наоборот.

Период выдержки, необходимый для осуществления размягчения, достаточно длителен, чтобы проявилось действие ферментов, и зависит от исходной нежности мяса, желаемой степени размягчения и температуры, при которой проводится процесс. Температура непосредственно влияет на действие ферментов: чем выше температура, тем кратковременнее процесс. В некоторых случаях атмосфера, в которой выдерживают мясо, содержит до 0,5 об.% кислорода. При желании она может практически не содержать кислорода. Хотя ранее уже предлагалось выдерживать мясо в атмосфере с содержанием  $CO_2$  до 25% и выше, чтобы подавить бактерии, данный метод позволяет ингибировать активность бактерий с помощью гораздо меньших доз  $CO_2$ .

Так, в одном из опытов содержание  $CO_2$  в воздухе составляло 5–12 %. Кроме  $CO_2$  и  $O_2$  атмосфера содержала в большом количестве инертные газы, например азот. Было обнаружено, что, чем выше содержание кислорода в атмосфере, тем больше требуется  $CO_2$ , чтобы обеспечить ингибирующий эффект.

Кроме того, для каждого уровня кислорода был установлен оптимальный уровень углекислого газа. В одном из опытов бычка убили, сняли с туши шкуру, провели нутровку. Затем тушу быстро охладили до 1,6 °С, причем период охлаждения обеспечил протекание *rigor mortis*. Быстрота была необходима для предотвращения закисания костей. После этого сортовые отрубы выдерживали и размягчали в течение 3 сут. при 15 °С в атмосфере, содержащей 1%  $O_2$ , 12%  $CO_2$ , азот и другие инертные газы. Относительную влажность поддерживали на уровне 95%, чтобы снизить потери массы вследствие высыхания, но она была достаточно низкой, чтобы не допустить конденсации влаги на поверхности мяса. Мясо размягчалось за относительно короткое время, и резко уменьшались потери массы по сравнению с выдержкой идентичного мяса при такой же относительной влажности, температуре и времени.

Следовательно, состав атмосферы, в которой выдерживает мясо, каким-то образом способствует снижению усушки. Причина здесь не вполне ясна. Бы-

ло также отмечено, что потеря массы размягченного таким образом мяса во время тепловой обработки уменьшается. Этот способ также сокращает рост микроорганизмов, так что к концу выдержки мясо размягчается, но не портится под влиянием бактерий и других организмов. Кроме того, уменьшаются глубина слоя обесцвеченного мяса и степень прогоркания жира. Увеличивается возможный срок хранения такого мяса по сравнению с мясом, которое аналогично выдерживали и размягчали, но в воздушной атмосфере.

#### **2.4 Использование добавок для ускорения процесса созревания мясного сырья**

Известно, что для размягчения мяса можно использовать водный раствор фосфата и хлористого натрия. Размягчающее действие такой обработки основано на увеличении степени гидратации, обусловленном водосвязывающими ионами. Дозу инъекции можно легко контролировать, добиваясь желаемой степени нежности. Поскольку раствор распространяется по всему мясу, обычно мясо становится равномерно нежным. Поэтому этот метод иногда предпочитают ферментной тендеризации.

#### **2.5 Использование газовой атмосферы для ускорения процесса мягчения мясного сырья**

Известно, что для осуществления различных целей при обработке мяса можно применять газы. Нижеследующие способы объясняют ускоренное размягчение парного мяса воздействием газовыми атмосферами под высоким давлением.

##### **2.5.1 Использование кислорода**

Ускорить созревание парного мяса можно, не замедляя процесс размягчения, путем воздействия на него в течение 12–48 ч воздухом, содержащим кислород концентрацией не менее 70 %, под давлением 2,1–5,6 кгс/см<sup>2</sup> и при температуре 34–44 °С. Этот процесс описал Х.Р. Шрайнер. Процесс включает в себя обработку отрубов парного мяса воздухом с относительно высокой концентрацией кислорода (70 %) или другого газа, например азота или аргона, при такой температуре и под таким давлением, которые обуславливают минимальный период времени, необходимый для проявления размягчающего действия протеолитических ферментов. Таким образом, основное преимущество – кратковременность процесса, т. е. несколько часов по сравнению с несколькими сутками или неделями при традиционном процессе, причем этот процесс не влияет отрицательно на качество мяса.

При практическом осуществлении процесса мясо подвешивают на крючок, закрепленный на поперечной балке в автоклаве. Дверцу закрывают и устанавливают температуру, давление и концентрацию кислорода в атмосфере автоклава. Рекомендуются давление 3,1 кгс/см<sup>2</sup>, температура 40 °С, концентрация кислорода 95% и продолжительность обработки 24 ч. Когда впоследствии мясо вынимают из автоклава, оно является нежным, хотя процесс не был длительным. Другая отличительная черта этого процесса – эффективное ингибирование бактериального роста кислородом под давлением.

### 2.5.2 Использование углекислого газа

Д.Д. Пипкин обнаружил, что помещение мяса в атмосферу  $\text{CO}_2$  при определенных параметрах размягчает мясо и сокращает потери массы при последующей тепловой обработке. Практически атмосферой воздействия является чистый углекислый газ под давлением  $2,1-9,4 \text{ кгс/см}^2$  в течение времени, изображенного в виде заштрихованной площади на рисунке 6. После этого мясо выдерживают в течение примерно 4 ч и подвергают тепловой обработке.

На рисунке 4 линия А отражает кривую зависимости между минимальным временем и давлением, т. е. минимальную продолжительность процесса при различном давлении, которая сокращает потерю массы при тепловой обработке не менее 15%. Линия Б представляет собой кривую зависимости между максимальной продолжительностью процесса и давлением, а заштрихованная площадь – это рабочий диапазон продолжительности процесса и давления.

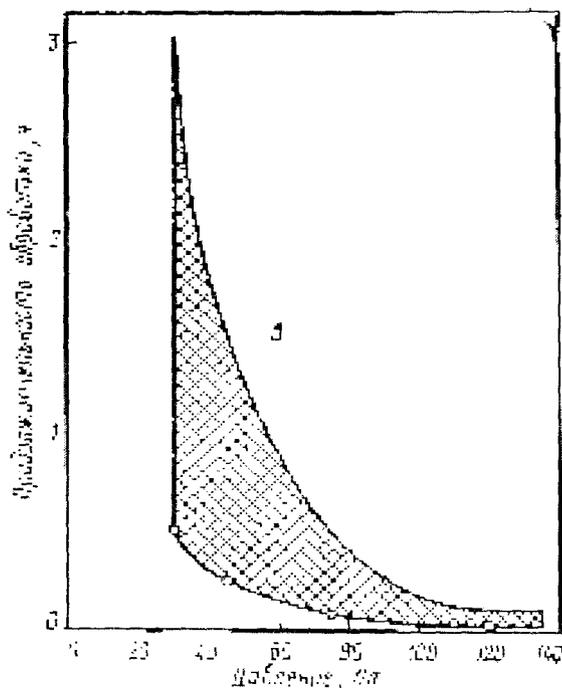


Рисунок 1 - Зависимость между продолжительностью (заштрихованный участок означает рабочую площадь) и давлением.

При применении этого метода мясо помещают в емкость, в которой можно создавать давление. Предварительно ее продувают углекислым газом. После этого создают давление в диапазоне  $2,1-9,4 \text{ кгс/см}^2$  (предпочтительно  $2,1-6,3 \text{ кгс/см}^2$ ). Продолжительность поддерживаемого давления соответствует кривой А не более чем в 6 раз по сравнению с кривой Б. Давление снимают, мясо выдерживают под атмосферным давлением не менее 4 ч. После этого мясо подвергают тепловой обработке, потери массы снижаются на 15%. Нежность мяса значительно повышается.

Пример 1. Говядину («глазок» заднепоясничной части) с исходной массой 1,042 кг обрабатывали под давлением  $6,3 \text{ кгс/см}^2$  в течение 5 мин, затем выдерживали 4 ч и подвергали 1,5-часовой тепловой обработке при  $162,7 \text{ }^\circ\text{C}$ . Масса гото-

вого продукта составила 0,742 кг, т. е. потеря равняется 28,9 %. Идентичный образец мяса после тепловой обработки весил 0,695 кг (при таком же температурном и временном режиме), т. е. потеря массы составила 33,4 %. Потеря массы опытным образцом мяса была меньше на 13,5 %. Нежность контрольного и опытного образцов измеряли тендерометром. Опытный образец был гораздо нежнее.

Пример 2. Говядину (ростбиф из лопаточной части) с исходной массой 0,535 кг обрабатывали под давлением 6,3 кгс/см кв. в течение 10 мин, затем выдерживали 18 ч и подвергали тепловой обработке при 162,7 °С в течение 1,5ч. После тепловой обработки масса мяса равнялась 0,345 кг (потеря 35,5%). При идентичной тепловой обработке контрольный образец весил 0,283 кг (потеря 45,7%). Опытный образец потерял в массе примерно на 22% меньше. Измерение нежности показало, что опытный образец был нежнее.

### **3 Обработка мясного сырья с целью задержки ферментативной порчи**

#### **3.1 Предубойная инъекция адреналина для задержки ферментативной порчи**

Два наиболее важных фактора в порче мяса – ферменты и бактерии. Чтобы предупредить нежелательные эффекты, бактерии и ферменты следует уничтожить или замедлить их действие. Одним из способов уничтожения и инактивации бактерий и ферментов является ионизирующее облучение. Однако ферменты настолько резистентны к радиационной деструкции, что требуются дозы свыше  $10 \times 10^7$  фэр для их полной инактивации.

Химико–физические свойства пищевых продуктов, облученных указанными дозами, как правило, изменяются в худшую сторону вследствие разрушения клеток, тканей и изменения вкуса, запаха, цвета и т. д. С другой стороны, для уничтожения бактерий требуется доза в пять раз ниже, порядка 500000–4000000 фэр. При таких относительно небольших дозах побочные изменения физико–химических показателей мяса не снижают промышленной приемлемости продукта.

Краджко–Томас предложил метод стабилизации мяса в отношении ферментативной и бактериальной порчи: убойных животных перед убоем обрабатывают реагентом, способным удалять из мышц гликоген, например адреналином; когда содержание гликогена сокращается примерно на 40 % в результате обменных процессов, животное убивают (в то время рН мяса равен 6,5–7,5), а их мясо подвергают ионизирующей радиации.

Значение этого метода заключается в том, что консервировкой мяса такой низкой дозой облучения нежелательные побочные явления облучения сводятся к минимуму. Только обработка адреналином инактивирует ферменты, так что мясо можно хранить длительное время без признаков порчи, если убой животных, разделку мяса и хранение производят в абсолютно асептических условиях. Однако очевидно, что при обычных способах убоя, распределения и хранения мяса этого добиться невозможно. Хотя ни один процесс не является надежным и эффективным сам по себе, эффективности и практичности можно добиться комбинированием адреналиновой обработки с радиационной стерилизацией. Это обеспечивает синергистическое действие, которое не только позволяет относительно долго хранить мясо, но и дает продукт, не претерпевающий нежелательных побочных изменений, например, не появляется нежелательного привкуса и постороннего запаха. Упаковка мяса в заваренные контейнеры перед облучением полностью устраняет последующее заражение бактериями. Если требуется хранить мясо в течение чрезвычайно длительного периода, упаковочный материал должен быть газонепроницаемым, а газовая среда в контейнере совсем не должна содержать кислорода.

В соответствии с данным процессом убойному животному инъектируют достаточную дозу адреналина и адреналиноподобного вещества, чтобы стимулировать удаление гликогена. После определенного периода времени, когда рН стабилизируется на уровне 6,5–7,5, животное убивают. Такая обработка на-

столько эффективна, что ферментативную порчу этого мяса можно обнаружить только после нескольких недель хранения при комнатной температуре при соблюдении асептических условий. Хотя следует понимать, что инъекцируемая доза и период времени до убоя зависят от особенностей убойных животных, от уровня гликогена в их мышцах, от вида адреналиноподобного вещества и т. д., рекомендуемая доза адреналина (в виде хлор гидрата адреналина) равна 100–1000 гаммам (оптимально 150–500) на 1 кг живой массы, а инъекцию следует производить за 1–24 ч (оптимально за 4–8 ч) до убоя.

Этот процесс применим к различным видам животных: кроликам, крупному рогатому скоту, овцам, козам, свиньям и т. д. поскольку адреналин и адреналиноподобные вещества быстро метаболизируются ферментными процессами окисления и сопряжения в организме животного, они исчезают из мяса до его употребления в пищу. Адреналин присутствует практически во всех органах и тканях животных, включая человека, но его следовые остаточные количества безвредны.

Оптимальная доза радиации зависит от вида убойных животных и от дозы адреналина. Облучение адренализированного мяса в соответствующем контейнере, например в металлической банке, полимерной таре из полиэтилена, ПВХ, сарана и т. д., защищает мясо от заражения после облучения. Адреналин или другой адреналиноподобный реагент стимулирует превращение мышечного гликогена в глюкозо-1-фосфат. При жизни животного это соединение удаляется различными обменными процессами: оно может превращаться в пировиноградную кислоту, которая в свою очередь окисляется до  $\text{CO}_2$  или ре синтезируется до гликогена в печени; может превращаться и в гликоген в печени и храниться там; в почках может разрушаться до молочной кислоты, выделяющейся с мочой.

Однако после смерти животного оставшийся в мышцах гликоген разрушается до молочной кислоты. Очевидно, именно это накопление молочной кислоты наряду с другими факторами вызывает снижение pH до 5,0–6,0, т. е. до оптимального диапазона для ферментной протеологической порчи мяса. Инъекция адреналина перед убоем обеспечивает достаточное прижизненное разрушение гликогена для предупреждения падения pH мышц после убоя. Сохраняется примерно нейтральный pH (6,5–7,5), при котором происходит незначительная ферментная порча даже во время хранения при комнатной температуре.

На практике желательно удалять не менее 40–50% (т. е. 40–100%) гликогена, обычно присутствующего в мышцах животного. Нет необходимости удалять весь гликоген из мышц, так как его остаточное количество вызывает лишь небольшое падение pH в результате послеубойного образования молочной кислоты. Этого снижения недостаточно, чтобы способствовать протеолитической активности катепсинов в мышцах. Возможно, что различные соединения, присутствующие в мышцах животного, могут нейтрализовать или буферировать кислотность. Следовательно, можно применять адреналин или адреналиноподобные вещества: синефрин, левартеренол, амфетамин, декстроамфеталин, фенилефрин, изопротеренол, эфедрин, гормоны щитовидной железы и гипофиза.

Энергия радиации может быть от 100000 до 10 млн. эВ. Хорошим источником ионизирующей радиации является пучок электронов высокой энергии, так как он образует большое количество легко контролируемой ионизирующей радиации за короткое время, не делая продукт радиоактивным. Примерами таких источников радиации могут служить гамма лучи, обожженные куски урана, побочные продукты деления (отработанный раствор), выделенные изотопы (Cs137), газообразные продукты распада, высвобождающиеся при ядерных реакциях, и т. д., бетатрон, рентгеновские лучи, генератор Ван-де-Граафа и др.

Доза радиации, разумеется, зависит от облучаемого мяса, вида и количества присутствующих бактерий и температуры хранения мяса. Рекомендуется, чтобы доза была по возможности низкой и обеспечивала предупреждение порчи мяса при температуре хранения, это дозы в диапазоне  $1,0 \times 10^6 - 8 \times 10^6$  фэр (предпочтительно  $6 \times 10^6$  фэр). Для хранения в течение длительного периода времени (3–4 недель) при комнатной температуре (около 25С) достаточной является доза  $2-3 \times 10^6$  фэр в сочетании с дозой адреналина 200–300 гамма/кг.

Хранение при пониженной температуре не требует такой высокой дозы, как при повышенной температуре, в то время как для полной инактивации ферментов необходима доза свыше  $10 \times 10^7$  фэр. Облучение можно производить при комнатной температуре, выше и ниже ее (например, замороженного мяса).

Пример 1. Кроликам массой около 3 кг вводили внутримышечно адреналин (изотонический раствор хлор гидрата адреналина 1:1000), стабилизированный с помощью 0,5% хлор этана, за 4 ч до убоя. Мышцы этих кроликов после убоя, полученные асептически, хранили при 38С в стерильных анаэробных условиях, чтобы избежать бактериального воздействия, и анализировали в течение 0–15 сут.

Для сравнения результатов приготавливали контрольные образцы. Для этого брали мясо необработанных кроликов, полученное и хранившееся в аналогичных условиях. Ниже приведено фактическое количество хлор гидрата адреналина, использованное на 1 кг массы животного (табл. 12). Единицей массы адреналина является гамма, т. е. 0,000001 г, или 1 мкг. рН мышц кроликов измеряли сразу после убоя (0 ч), после начала *rigor mortis* (18 ч) и через 15 сут хранения при 38С. Результаты рН мышц кроликов после инъекции адреналина приведены ниже.

Таблица 12

Доза адреналина	0 ч	18 ч (38 °С)	15 сут (38 °С)
0	6,7	5,2–5,5	5,7
250	7,5	6,7	6,7

Эти данные показывают, что рН необработанных животных быстро падало до 5,5 после начала процесса окоченения, а рН мышц адренализированных кро-

ликов – только с 7,5 до 6,7 и не изменялось в течение 15 сут хранения. Чтобы продемонстрировать влияние инъекции адреналина на гликогеновый обмен, измеряли уровень глюкозы в крови пяти кроликов непосредственно перед убоем. Как показано в таблице 13, у кроликов, получивших дозу адреналина 50–250 у/кг, уровень глюкозы возрастал, параллельно наблюдалось увеличение и содержание молочной кислоты в крови живых животных. Измеряли содержание аминокислот в мышцах во время хранения – через 18 ч и 15 сут; оно выражено через тирозино–триптофановый показатель при 279 мюм. Это стандартный тест для измерения аминокислот, образующихся при гидролизе белка (ниже показан уровень глюкозы в крови кроликов через 4 ч после инъекции).

Таблица 13

Доза адреналина, у/кг	Содержание глюкозы, мг %
0	82
0	74
50	101
250	187
250	196

Эти результаты ясно показывают, что уровень аминокислот незначительно возрастает при 15–суточном хранении при 38 °С у кроликов, которым вводили дозу адреналина 250 у/кг. Напротив, у контрольных кроликов отмечается заметное увеличение. При дозе 50 у/кг и при 15–суточном хранении получены средние величины уровня свободных аминокислот. Из этих данных вытекает, что, изменяя дозу адреналина, можно количественно влиять на содержание аминокислот во время хранения, т. е. на протеолиз и размягчение обработанного мяса (табл. 14).

Таблица 14.

Дозы адреналина у/кг	После хранения при 38 °С в течение		Дозы адрена- лина	После хранения при 38 °С в течение	
	18 ч	15 сут		18 ч	15 сут
0	2000	13000	50	3300	9000
0	2500	16000	250	3900	5000
0	4900	16200	250	4900	5200

Пример 2. Крупному бычку герефордской породы вводили адреналин примерно 110 у на 1 кг массы за 4 ч до убоя. После того как туша хранилась в подвешенном виде в течение 7 сут, ее разрубили, как обычно, и заморозили; аналогично обрабатывали контрольную неадренализированную тушу. Образцы из обеих туш размораживали и разрезали на куски размером 1,25×5×5 см, упа-

ковывали в полиэтиленовые пакеты и облучали с двух сторон энергией мощностью 15 МэВ с помощью резонансного трансформатора; дозы облучения составляли 0; 0,67; 2,0; 3,0 и 6,0–10хх6 фэр; темп облучения – 333000 фэр/с. Три варианта каждого образца (контрольного и опытного) облучали каждой дозой и хранили при комнатной температуре.

При температуре 35 °С все контрольные образцы, включая и тот, который облучали дозой 6×10×х6 фэр, испортились через 3 сут. Опытные образцы, облученные дозами 3×6×10×х6 фэр, были удовлетворительными в тех же условиях и не имели признаков порчи через 4 сут. При комнатной температуре результаты были аналогичными.

Пример 3. В этом опыте использовали двух свиней массой около 77 кг. Одна была контрольная, второй инъецировали адреналин (250 у/кг). Из туш вырезали спинные мышцы, унаковывали их в полиэтиленовые пакеты и облучали, как в примере 2.

Образцы, хранившиеся при 35 °С, через 4 сут. все контрольные образцы, включая и облученные дозой 6×10×х6 фэр, испортились; однако из опытных образцов испортились только те три, которые не облучали, а два из трех, облученных дозой 0,67×10×х6 фэр, имели хороший запах и твердую консистенцию.

В опыте с хранением при комнатной температуре контрольные образцы, облученные дозами не выше 2×10×х6 фэр, испортились через 8 сут, а облученные дозами 3 и 6×х10×х6 фэр проявляли признаки порчи через 19 сут. Все опытные образцы, кроме необлученных, были в удовлетворительном состоянии через 19 сут. хранения.

### **3.2. Стерилизация углекислым газом под давлением**

Облучением пользовались для стерилизации свежего мяса и сохранения его при комнатной температуре в течение неопределенного периода времени. При этом применяли бета-лучи (высокоскоростные электроны) или гамма-лучи, доза, как правило, превышала 2 Мрад. Облучение не давало, однако, товарной продукции, поскольку обработанное таким образом мясо, хотя и сохраняло хороший внешний вид, обладало неудовлетворительным вкусом: он был «пригорелым» и т. д. Такие привкусы очень трудно замаскировать, поэтому мясо, облученное стерилизующей дозой, неприемлемо для потребителя. Было предложено устранить этот недостаток, уменьшив дозу облучения (не выше 1 Мрад) и унаковав обработанное мясо в газовой химической атмосфере. Этот способ уничтожает нежелательные бактерии и споры в мясе, но не делает его стерильным.

В.М. Урбайн, Ж.Л. Шанк и Ф.Л. Каухман установили, что можно получить стерильный продукт, не ухудшив вкуса, если воздействовать на мясо углекислым газом под сверхатмосферным давлением и облучить относительно низкой дозой. При этом получают действительно стерильный продукт, который не портится, может храниться длительное время, не обесцвечивается, не меняет вкуса.

Существенно, что мясо необходимо выдерживать в атмосфере углекислого газа под давлением столько, чтобы при последующем облучении низкой дозой обеспечивалось максимальное уничтожение бактерий. Хорошие результаты обычно дает выдержка в течение 3–24 ч. Эффективным является давление до 63 кгс/см.кв., но оптимальным рекомендуется диапазон 1,05–8,4 кгс/см. кв. (давление указано по манометру). Повышенное давление обеспечивает особенно надежное уничтожение спор клостридий. Однако давление до 8,4 кгс/см. кв. в сочетании с облучением является вполне эффективным и не создает проблем, связанных с оборудованием и упаковкой.

При обработке мяса иногда бывает желательно подогреть его до 60–82 °С на протяжении нескольких минут с целью ин активировать ферменты, что сводит до минимума биохимическую порчу тканей мяса, вызываемую естественно присутствующими в них ферментами, а, следовательно, способствует сохранению вкуса свежего доброкачественного мяса и товарного вида.

Никакой специальной предварительной обработки мяса перед выдержкой в атмосфере CO<sub>2</sub> и облучением не требуется, однако было установлено, что удовлетворительные результаты можно получить, если герметично упаковать мясо, например, в консервные банки или другие виды тары. Мясо можно поместить, например, в банку, вакуумировать ее, после чего заполнить углекислым газом под давлением и подвергнуть ионизирующему облучению высокой энергии.

Пример 1. Свежеизмельченную говядину и говядину с инактивированными ферментами (т. е. нагретую до 76 °С) помещали в банки. Несколько образцов ин окулировали смесью аэробных бактерий *E. coli*, *S. durans* и спор гнило-стного анаэробного организма (ГА.) *Clostridia* 3679, остальные не ин окулировали. Банки закатывали, вакуумировали и вновь наполняли газом CO<sub>2</sub> до давления 8,4 кгс/см. кв. После такой обработки половину банок облучали гамма-источником дозой 1 Дж/кг; вторую половину банок не облучали. Некоторые образцы хранили при 37,7 °С с целью проведения бактериологических исследований через различные периоды времени. В таблице 15 показана бактериальная обсемененность после 2- и 7-суточного хранения говядины при 37,7 °С. Даже в таких неблагоприятных условиях и, несмотря на сильную обсемененность, образцы, обработанные углекислым газом и облученные, были стерильными. Мясо, выдержанное в атмосфере CO<sub>2</sub> и облученное дозой 1 Дж/кг, имело хороший цвет и вкус после 24 сут. хранения.

Таблица 15.

Образцы	Исходная обсемененность*	
	Общая аэробная флора	ГА-споры
Необработанные, В**	1400	1
Необработанные, В	59000	100
Необработанные, С***	6300000	100
Необработанные, С	Данные утеряны	100

Инокулированные, В	28000000	10××6
То же	26000000	10××6
Инокулированные, С	12000000	10××6
То же	6500	10××6
Облученные (1 Мрад), В	10000	1
То же	100	1
Облученные (1 Мрад), С	100	1
То же	100	1
Инокулированные и облученные, В		
То же	400	1
Инокулированные и облученные, С		
То же	800	1

После двухсуточного хранения при 37,7 °С

Образцы контрольные		Образцы из банок с CO <sub>2</sub>	
общая аэробная флора	ГА-споры	подтвержденные ГА-организмы	
		общее количество	споры
38000000	10××5	100	1
400000000	10××5	100	1
300000000	10××5	3100	1
650000000	10××6	3600	10
800000000	10××6	15000	1
720000000	10××6	15000	1
700000000	10××6	11000	10××2
780000000	10××6	12000	10××2
100	10××4	100	1
100	1	100	1
100	1	400	1
400	10××6	100	1
7000000	10××6	100	10××2
100	10××2	500	1
100	10××2	100	1

После семисуточного хранения при 37,7 °С

Пример 2. Сырую говядину в виде кусочков размером 3 см инокулировали спорами ГА-кlostридиями 3679, затем нагревали до 74 °С на протяжении примерно 6 мин с целью инактивации присутствующих в нем ферментов. При этом

некоторые виды бактерий погибли, но не споры и не термостойкие бактерии, которые обычно содержатся в мясе (табл. 16).

Таблица 16

Образцы	Образцы из контрольных банок		Образцы из банок с CO <sub>2</sub>	
	<общая аэробная флора/td>	споры ГА	общая аэробная флора	споры ГА
Необработанные, В**	–	****	100	1
Необработанные, В	–	****	140000000	1
Необработанные, С ***	–	****	210000000	1
Необработанные, С	–	****	190000000	11
Инокулированные, В	–	****	300000	10
То же	--	****	730000	1
Инокулированные, С	–	****	520000000	1
То же	–	****	300000000	100
Облученные (1 Мрад), В	100	1000	100	1
То же	200	100	100	1
Облученные (1 Мрад), С	100	1000	Не подсчитывали	
То же	100	1000	""	1
Инокулированные и облученные, В	2600	10хх6	100	1
То же	3300	10хх6	100	1
Инокулированные и облученные, С	--	****	200	10
То же	600	10хх6	100	10

\* Через 1 неделю при ЗС.

\*\* После инактивации ферментов (вареные).

\*\*\* Сырые.

\*\*\*\* Банки бомбажные, анализы не проводили (предположительно ГА составляют 10×х6 ч более).

На протяжении примерно 6 мин с целью инактивации присутствующих в нем ферментов. При этом некоторые виды бактерий погибли, но не споры и не термостойкие бактерии, которые обычно содержатся в мясе

Исходная обсемененность (до обработки) составляла 23 000 (общая) и 1000 (ГА) ее определяли стандартными бактериологическими методами: общую обсемененность – с помощью агара из экстракта мозга и сердца, количество спор – с помощью пептоноколлоидного бульона. Говядину выдерживали в атмосфере

ре  $\text{CO}_2$  под давлением 1,05 кгс/см. кв. в течение 18 ч, после чего облучили дозой 1 Дж/кг. После этого общая обсемененность не превышала 100, а количество спор ГА было менее 1. Некоторые образцы мяса хранили при 37,7 °С на протяжении 16 сут в стерильном контейнере. Анализы показали, что обсемененность за это время не увеличилась, а вкус и товарный вид мяса были хорошими.

#### 4 Роль бактериальных культур и препаратов при переработке мясного сырья пониженной биологической ценности

Современная концепция совершенствования и развития производства базируется на ресурсосбережении как реальном источнике усиления сырьевой базы. В отечественной мясоперерабатывающей отрасли около 14 % белоксодержащих ресурсов остаются невостребованными. Среди них особый интерес представляет мясо с пониженной биологической ценностью, т.е. мясо с повышенным содержанием соединительной ткани.

Функционально-технологические свойства коллагенсодержащего сырья недостаточно высоки и не дают желаемого эффекта в формировании качественных показателей продуктов.

Одним из перспективных направлений обработки такого сырья является использование бактериальных культур и препаратов.

В состав бактериальных препаратов разного назначения включают различные формы микроорганизмов, как правило, обладающих свойствами броодильного метаболизма: молочнокислые палочки - *Lactobacillus plantarum*, *L. pentosus*, *L. curvatus*, *L. sake*, *L. casei*, *L. alimentarium*, *L. furciminis*; кокки - *Staphylococcus carnosus*, *St. xylosus*, *Pediococcus acidilactici*, *P. pentosaceus* и *Micrococcus varians*; дрожже-подобные грибы - *Debaryomyces hansenii*, *Candida famata* и плесневые грибы - *Penicillium nalgiovense*, *P. camembertii candidum*. Реже бактериальные препараты включают другие виды микроорганизмов.

Бактериальные препараты применяют в основном, при производстве сырых колбас в виде одиночных, двойных, тройных и более кратных сочетаний видов разных микроорганизмов. Следует подчеркнуть, что большинство бактериальных препаратов (стартовые культуры) вносят непосредственно в фарш при его приготовлении, а дрожжеподобные и плесневые грибы (защитные культуры) чаще используют для поверхностной обработки батонов. При этом защитные культуры наряду с ингибированием развития нежелательных видов микроорганизмов выполняют функции регулятора влагоотдачи с поверхности батона.

При составлении фарша бактериальные препараты в сухом или гидратированном виде вносят одновременно со специями, углеводами и другими добавками, но, как правило, до внесения хлорида и нитрита натрия.

Бактериальные препараты рекомендуется использовать при наличии повышенной степени микробного загрязнения мясного сырья или при наличии излишне стерильного сырья. В первом случае из-за незначительной доли позитивных в технологическом отношении микробов от общего количества ассоциантов, присутствующих в фарше, невозможно будет в полной мере использовать их антагонистический потенциал для подавления патогенных и нежелательных микробов, что может привести к получению бракованной продукции. Во втором случае недостаточное содержание позитивных микроорганизмов снизит темп ферментации, уровень кислотообразования и, следовательно, может привести, как минимум, к увеличению сроков созревания и сушки продуктов.

Среди кислотообразующих бактерий различают гетероферментативные и гомоферментативные. Гетероферментативные бактерии образуют из углеводов наряду с молочной кислотой другие продукты распада, в том числе уксусную и пропионовую кислоты, спирты, CO<sub>2</sub>. Гомоферментативные бактерии образуют преимущественно молочную кислоту.

Бактерии стартовых культур подразделяют на два типа: с восстановительной и окислительной способностью.

К первой группе относят кокковые формы, в том числе микрококки и стафилококки, которые благодаря действию ряда ферментов и прежде всего нитратредуктазы, каталазы, протеазы и липазы в значительной мере формируют привычные для потребителя органолептические свойства мясных продуктов. Наиболее характерными представителями являются *St. carnosus* и *St. xilosus*. Бактерии *St. carnosus* практически не производят кислот. Они могут использоваться при производстве всех видов ферментированных мясных продуктов, не требующих существенного подкисления. Действие *St. xilosus* сходно со *St. carnosus*, но считается, что он способствует образованию более богатой ароматической палитры в готовом продукте.

Ко второй группе относят бактерии родов *Lactobacillaceae* и *Streptococcaceae*. Они обладают окислительной способностью, обеспечивающей сдерживание роста нежелательной с технологической точки зрения микрофлоры, фиксацию окиси азота миоглобином, деструкцию пероксидных соединений, снижающей риск позеленения фарша, а также прогоркания жира. Наиболее распространенными в бактериальных препаратах являются микробы видов *L. plantarum* и *L. curvatus*. *L. plantarum* является культурой, способствующей интенсивному образованию молочной кислоты, в то время как *L. curvatus* (мягкий кислотообразователь) используется при пониженных температурах процессов термовлажностной обработки. К кислотообразующим лактозанегативным культурам относится *Pediococcus pentosaceus* обеспечивающий мягкое, несильное подкисление и тонкий аромат в готовом изделии.

Следует отметить, что даже наличие в тех или иных бактериальных препаратах одних и тех же микробных культур не гарантирует идентичность их технологических свойств. Это обусловлено различиями качественного и количественного состава стартовых культур разным происхождением штаммов отличающимися технологиями подготовки исходных микроорганизмов употреблению, например, по режимам сублимации. По этой причине имеется необходимость проведения тестов при отработке технологии конкретных видов мясной продукции, с учетом реальных возможностей производства. В случае замены стартовых культур технологии мясных продуктов необходимо проводить перепроверку рецептур и режимов производства.

При выборе штамма следует учитывать его антагонистическую активность по отношению к патогенной и условно патогенной микрофлоре, форму образуемой молочной кислоты, взаимодействие с другими бактериями позитивно-технологической микрофлоры.

Из зарубежных бактериальных препаратов на рынках СНГ представлены стартовые культуры компаний: "Христиан Хансен" (CHR. HANSEN, Дания),

"Родиа фуд" (Rhodia Food, Швейцария), "Даниско Культур" (Danisco Kultor, Дания), а также ряда компаний из Германии, в том числе "БК Джулини" (BK Guilini), "Омега-Рапс" (Omega-Raps), "Могунтия" (Moguntia), "Гевюрцмюле" (Gewürzmühle Nesse GmbH), "Виберг" (Wiberg).

В табл. 17 представлен микробный состав некоторых стартовых культур компании "Христиан Хансен".

Различают четыре группы стартовых культур, имеющих различные окислительные способности: "медленные", "промежуточные", "быстрые" и "сверхбыстрые". Так, в состав "медленной" стартовой культуры P2M120 входят кокковые формы бактерий *St. carnosus* и *St. xylosus*, а также *Pediococcus acidilactici*. В состав "быстрой" стартовой культуры "ТЕХЕЛ™" SP Elite включены следующие виды микроорганизмов: *St. carnosus*, *St. xylosus*, а также *Pediococcus pentosaceus*, *Lactobacillus sake* и дрожжеподобный гриб *Candida famata*. Также, компанией "БК Джулини" предложено три вида стартовых культур: "ТАРИ Микро ХТН", "ТАРИ С 70" и "ТАРИ Микро МСН". Стартовая культура "ТАРИ Микро ХТН" относится к универсальным и используется в производстве всех видов сырых колбас: ферментированных и сушеных, с традиционным и ускоренным сроками производства, режущейся и мажущейся консистенции. Препарат основан на монокультуре *St. carnosus*. Культура "ТАРИ Микро МСН" также относится к универсальным бактериальным препаратам и используется для всех видов сырых колбас со средним сроком созревания. В то же время препарат "ТАРИ С 70" предназначен для выработки колбас быстрого созревания.

Таблица 17 - Состав стартовых культур "Бактоферм"

Стартовая культура «Бактоферм»	Бактерии, входящие в состав культуры «Бактоферм»	Продолжительность технологического процесса, сут.
Для традиционных колбас		
T-SC-150	<i>Staphylococcus carnosus</i> <i>Lactobacillus curvatis</i>	21-28
T-SP	<i>Staphylococcus carnosus</i> <i>Pediococcus pentosaceus</i>	
T-SPX	<i>Staphylococcus xylosus</i> <i>Pediococcus pentosaceus</i>	
Для ускоренного созревания		
F-SC-111	<i>Staphylococcus carnosus</i> <i>Lactobacillus curvatis</i>	14
F-I	<i>Staphylococcus xylosus</i> <i>Pediococcus pentosaceus</i>	

Бактериальные препараты можно разделить на две группы: однофункциональные и многофункциональные. Обычно бактериальные препараты состоят из сублимированных микробных культур и носителя, в качестве которого используется чаще всего глюкоза. Это относится к стартовым культурам "ТЕХЕЛ™" (уровень внесения в фарш 0,01 %), к препаратам "Bactoferm™"

(уровень внесения - 0,025 %), "Биостар Спринт" (0,05 %) и "Бессастарт" (0,06 %). Уровень внесения отечественного бактериального препарата ПБ-МП составляет 0,1 % к массе мясного сырья. Препараты "ГАРИ" с уровнем внесения 0,8-1,2 % являются многофункциональными, и в их состав наряду с собственно бактериальным препаратом входят сахара и глюконо-дельта-лактон (ГДЛ). Судя по уровню внесения - 1,4 %, препарат "Суперфаст" компании "производстве сырокопченых и сыровяленых колбас играют углеводы (сахариды). Прежде всего это моносахарид - глюкоза (декстроза или виноградный сахар); дисахариды - сахароза (тростниковый сахар), лактоза (молочный сахар) и реже мальтоза, а также некоторые олигосахариды (декстран, декстрины, крахмал, сухая крахмальная патока). При этом углеводы, с одной стороны, служат пищей для молочнокислых бактерий, а с другой - активно участвуют в формировании органолептических свойств (цвет, вкус, аромат) готового продукта. При выборе количественного и качественного составов применяемых углеводов следует учитывать, что микробами сначала сбраживаются моносахариды, затем дисахариды, а уже потом, после некоторого времени адаптации, полисахариды. Глюкоза представляет собой тот сахар, который преобразуется в максимальное количество молочной кислоты. Несколько ниже окислительная способность сахарозы. Далее идет мальтоза. Из лактозы получают небольшое количество молочной кислоты, и поэтому она способствует слабому окислению. Несколько выше лактозы окислительная способность у декстринов.

Выбор используемых углеводов при производстве мясных продуктов связан с уровнем их сладости. Если сладость сахарозы принята за 100 %, то у фруктозы она составляет 170 %, у глюкозы 75 %, у галактозы - 70 %, а у лактозы от 20 до 40 % и лактулозы - от 48 до 62 %. Это обстоятельство в значительной мере предопределило исключение фруктозы из рецептур мясных продуктов, ограничило внесение сахарозы на уровне 0,1-0,5 % и в то же время позволило использовать лактозу в технологии ферментированных продуктов в более высоких концентрациях - до 0,7-1,0 %, а в отдельных случаях даже до 2-3 % без существенного искажения вкуса.

В настоящее время исследуется возможность применения лактулозы при переработке мясного сырья пониженной биологической ценности. Это обусловлено, с одной стороны, наличием признанных пребиотических свойств у этого дисахарида, а с другой - высокими органолептическими показателями готовой продукции, полученной при использовании лактулозы в комплексе с другими углеводами, прежде всего глюкозой и сахарозой.

В современных технологиях углеводы рекомендуется вносить в фарш в виде смеси двух или нескольких видов. Это позволяет регулировать скорость и степень кислотообразования, а также целенаправленно управлять органолептическими показателями готового продукта.

Выбор вида и количества углеводов, вносимых в фарш при изготовлении колбас, определяется с учетом вида, состава и характеристик применяемых бактериальных препаратов. Так, при использовании лактозонегативных видов микроорганизмов, при соблюдении хороших санитарно-гигиенических условий производства можно увеличить дозировку лактозы (таблице 18).

Таблица 18 - Количество вносимых в фарш ферментированных колбас углеводов

Углеводы	Количество, %, в фаршах колбас	
	быстрого созревания	медленного созревания
Глюкоза	0,5-0,7	Около 0,3
Лактоза	до 1,0	до 0,6
Смесь глюкозы (30 %) и лактозы (70 %)	до 1,0	до 0,7

Однако некоторые зарубежные авторы считают, что при производстве ряда сырых колбас быстрого созревания лучшее соотношение, с позиции получения высоких органолептических свойств, дает комбинация лактозы и глюкозы в больших количествах - вплоть до 3-5 %. Следует отметить ограничения количества углеводов в сырокопченых колбасах, установленных СанПиК 2.3.2.1078-01 на уровне до 1,0%, что по нашему мнению, спорно и подлежит дальнейшему уточнению, по крайней мере, в отношении колбас ускоренного созревания. При этом следует не забывать о вкусовых ограничениях, указанных выше. Необходимо также учитывать и то, что углеводы более дешевы, чем мясное сырье, и при большом уровне внесения они выполняют функцию наполнителей.

Следовательно, можно сделать вывод о том, что при переработке мясного сырья пониженной биологической ценности правильный выбор используемых углеводов и бактериальных препаратов в значительной мере предопределяет качество и безопасность готовых продуктов.

Обобщение результатов исследований, выполненных И.Н. Липатовым, В.Г. Боресковым, Н.Г. Кроховой, Л.Ф. Митасевой, А.В. Стефановым и др., позволило предположить, что альтернативой операции жиловки при производстве мясопродуктов из сырья с высокой массовой долей соединительной ткани является биотехнологическая модификация такого сырья за счет воздействия на него протеолитическими ферментными препаратами, обладающими коллагеназной и эластазной активностью.

В табл. 19 приведены усредненные экспериментальные данные, характеризующие влияние процесса ферментативной модификации сырья на его общехимический, макро- и микроэлементный и аминокислотный составы на примере говяжьей обрести.

Таблица 19 - Общий химический, макро-, микроэлементный и аминокислотный состав говяжьей обрезки

Показатели	Обрезь		
	нежилованная	жилованная	обработанная ферментами
Массовая доля, %:			
влаги	67,300	67,700	67,800
жира	14,300	16,600	14,200
белка	17,300	15,300	17,000
зола	1,100	1,000	0,900
Макроэлементы, мг/г сухого вещества:			
кальций	0,530	0,410	0,490
фосфор	6,070	6,310	6,150
калий	17,560	15,090	16,890
хлор	1,800	1,910	2,530
сера	4,820	5,030	4,610
магний	2,810	2,470	2,710
Микроэлементы, мкг/г сухого вещества:			
железо	89,060	92,130	87,110
медь	3,090	2,910	2,730
цинк	18,760	21,510	19,160
марганец	3,180	2,750	2,940
кремний	0,630	0,780	0,710
никель	1,310	1,590	1,450
Аминокислоты, г/100 г белка:			
незаменимые:			
изолейцин	4,220	5,140	4,340
лейцин	8,020	8,210	9,140
лизин	8,410	8,810	6,650
метионин+цистин	3,380	3,740	3,680
фенилаланин + тирозин	6,870	7,470	7,030
треонин	4,490	5,170	4,970
триптофан	0,920	1,090	0,910
валин	6,020	5,830	5,750
заменимые:			
аланин	5,580	4,820	4,970
аргинин	7,480	7,590	6,720
аспарагиновая кислота	9,360	9,810	9,970
гистидин	2,960	2,650	2,470
глутаминовая кислота	16,930	16,170	16,920
глицин	4,390	4,110	5,740
пролин	4,810	4,070	5,270
серин	4,360	4,210	4,120
оксипролин	1,740	1,580	1,710
ВПК, доля ед.	0,530	0,690	0,530
Коэффициент рациональности аминокислотного состава	0,774	0,791	0,780

Результаты показывают, что обработка такого сырья протеолитическими ферментами не сопровождается достоверными изменениями его состава. Вместе с тем, ферментализ обрезки взамен ее жировки позволяет сохранить в составе продукта более 1,5 % мясного белка.

В табл. 20 представлены результаты исследований влияния ферментативной обработки мясной обрезки протеазами животного происхождения на комплекс физико-химических показателей обрабатываемого сырья. Данные, характеризующие структурно-механические свойства жилованной и нежилованной говяжьей обрезки, получены авторами с помощью универсальной испытательной машины «Инстрон-1122».

Таблица 20 - Физико-химические показатели ферментированной и не ферментированной говяжьей обрезки

Перечень показателей	Обрезь		
	нежилованная	жилованная	обработанная ферментами
РН	5,67-5,87	5,78-5,84	5,79-5,95
Водосвязывающая способность, % к общей влаге	76,9-79,7	81,2-85,3	82,3-85,5
Интегральное усилие среза, $y \times 10^{-5}$ , Н/м <sup>2</sup>	7,28-8,12	5,71-6,32	6,74-7,13
Интегральная работа резания, $A \times 10^{-3}$ , Дж/м <sup>2</sup>	4,16-4,78	3,31-4,11	3,97-4,91
Усилие резания, Н/м <sup>2</sup> поперек волокон	12,61-13,11	12,54-13,96	11,81-12,97
вдоль волокон	11,09-12,31	10,97-12,14	10,64-11,78

Как видно из табл. 20, в результате ферментативной обработки интегральные прочностные характеристики нежилованной мясной обрезки снижаются более чем на 15 %. Дифференцированная оценка влияния ферментации на изменение усилия резания мышечной ткани мясной обрезки поперек и вдоль волокон показала, что в среднем эти параметры снижаются на 5 %. Таким образом, уменьшение жесткости нетермообработанного сырья с высоким содержанием соединительной ткани, подвергнутого гидролизу пепсином, более чем на 10 % происходит именно за счет тендеризирующего воздействия фермен-

та на коллаген и эластин. Авторы отмечают также увеличение примерно на 7,2 % водосвязывающей способности нежированной говяжьей обрезки после обработки ее ферментом.

Анализ научно-технической и патентной литературы показал, что одним из перспективных направлений обработки мясного сырья пониженной биологической ценности с целью улучшения его функционально-технологических свойств является использование бактериальных культур и препаратов.

Обобщая теоретические исследования для обработки мяса пониженной биологической ценности можно предложить использование стартовых культур в составе посолочного рассола. Технология обработки предусматривает инъецирование сырья рассолом в количестве 7-10 %, ферментацию при температуре 2-6 °С в течение 2-5 суток. Рассол в качестве углеводного компонента содержит сахар-песок, а в качестве стартовой культуры микроорганизмов используют *Lactobacillus bulgaricus* и *Staphylococcus carnosus*. Посол проводят методом натирки посолочной смесью, состоящей из поваренной соли и нитрита натрия в количестве 3 % к массе сырья, ферментацию проводят при температуре 30 °С в течение 6-8 часов.

Результатом является ускорение процесса посола мясного сырья и повышение биологической ценности мясного продукта.

Раствор для инъецирования готовится следующим образом. Для приготовления раствора в предварительно подготовленную емкость наливают воду питьевую в количестве 95 %. Затем в ней растворяют углеводный компонент в количестве 5 %. В полученный раствор добавляют сублимированный препарат стартовых культур *Lactobacillus bulgaricus* и *Staphylococcus carnosus* в количестве 0,05 % ( $110^{10}$  КОЕ/г) и перемешивают до полного растворения. Раствор выдерживают в течение 1-2 часа, после чего используют для инъецирования.

Инъецированное мясное сырье натирают посолочной смесью, состоящей из соли поваренной пищевой 99,6% и нитрита натрия 0,4% в количестве 3% к массе мясного сырья. Полученное сырье укладывают в штабели на поддоны или в емкости в 2-3 слоя и подвергают созреванию при температуре 30 °С в течение 6-8 часов. Затем процесс ведут в соответствии с общепринятой технологической схемой производства мясного продукта.

Бактерии *Lactobacillus bulgaricus*, широко применяемые в молочной промышленности, являются термофильными и обладают высокой кислотообразующей способностью. Они интенсивно превращают углеводы (глюкозу, лактозу, фруктозу и др.) в молочную кислоту, чем резко снижают pH среды. Температурный оптимум *Lactobacillus bulgaricus* находится в пределах 30-35 °С. При этой температуре и достаточном количестве углеводного сырья *Lactobacillus bulgaricus* снижает pH NOR мясного сырья до уровня 5,0-5,2 за 6-8 часов. При этом формируются характерные органолептические и структурные свойства мясного сырья и угнетается гнилостная микрофлора. Характерной особенностью *Lactobacillus bulgaricus* является высокая чувствительность к пищевой поваренной соли, что обуславливает отдельное их введение. Проведенные модельные эксперименты позволяют утверждать, что введение в субстрат 2,0-2,5% пищевой поваренной соли снижает кислотообразующую способность

*Lactobacillus bulgaricus* в 4-5 раз. При нанесении на поверхность продукта поваренной соли в количестве 3% к массе сырья ее концентрация в центральной части продукта достигает 2% через 6-9 часов (образец сечением 50\*60) при выбранной температуре созревания. Также существенно снижает кислотообразующую способность снижение температур среды. Модельным экспериментом установлено, что при снижении температуры с 35°C до 15°C кислотообразующая активность снижается с 8 до 1 раз. Имеются также данные об ингибирующем воздействии нитрита натрия на активность молочнокислых бактерий.

Препарат *Staphylococcus carnosus* широко используется в мясной промышленности для создания богатой вкусоароматической гаммы сырокопченых продуктов и как денитрифицирующий агент. Он также имеет температурный оптимум 30°C и толерантен к поваренной соли и нитриту натрия.

При анализе литературы установлено, что для проведения ферментации мясного сырья необходимым и достаточным является количество препарата 0,05 кг ( $1 \cdot 10^{10}$  КОЕ/г).

Анализ полученных данных указывает на целесообразность проведения ферментации с выбранным препаратом стартовых культур *Lactobacillus bulgaricus* и *Staphylococcus carnosus* в количестве 0,05 кг ( $1 \cdot 10^{10}$  КОЕ/г) при температуре 30°C в течение 6-8 часов до достижения мясным сырьем уровня pH 5,0-5,2, а также на необходимость раздельного внесения препарата стартовых культур с углеводным компонентом внутрь продукта, а поваренной соли и нитрита натрия на его поверхность.

Основным достоинством данного способа является существенное ускорение технологического процесса посола и созревания мясного сырья для производства мясных продуктов по сравнению с традиционными и снижение себестоимости конечного продукта, связанное с уменьшением продолжительности процесса и использованием в качестве стартовых широко распространенных препаратов молочнокислых бактерий.

## **Выводы**

1 Выявлены тенденции в развитии технологии переработки мясного сырья пониженной биологической ценности.

2 Изучены традиционные и современные методы обработки мясного сырья пониженной биологической ценности.

3 Установлено, что одним из перспективных направлений обработки мясного сырья пониженной биологической ценности с целью улучшения функционально-технологических свойств является использование бактериальных культур и препаратов.

4 Предложено использовать в составе посолочного рассола сублимированный препарат стартовых культур *Lactobacillus bulgancus* и *Staphylococcus carnosus* в количестве 0,05 %.

## Список использованных источников

1. Судакова Н.В., Борисенко Л.А., Кокоева В.С. Изучение влияния активированных жидких систем на качественные характеристики мясопродуктов// Материалы XXXVII научно-технической конференции по итогам работы профессорско-преподавательского состава СевКавГТУ за 2007 год. Том первый. Естественные и точные науки. Технические и прикладные науки. Ставрополь: СевКавГТУ, 2008. 236 с.
2. Тулеуов Е.Т. «Производство конины» М.: Агропромиздат. 1986
3. Сенченко Б.С., Рогов И.А., Забашта А.Г., Бондаренко В.И.
4. Технологический сборник рецептов колбасных изделий и копченостей. Серия «Технологии пищевых производств» - Ростов н/Д.: Издательский центр «МарТ», 2001. 894 стр.
5. Зонин В.Г. Современное производство колбас и солено-копченых изделий. – СПб.: Профессия, 2006. – 224 с., ил.
6. Журавская Н.Г., Алехина Л.Г., Отрященникова Л.М. Исследование и контроль качества мяса и мясопродуктов. – М.: Агропромиздат, 1985 – 296 с.
7. Кармас Э. Технология колбасных изделий: Перевод с английского – М.: Легкая и пищевая промышленность, - 1981. – 256 стр.
8. Уалиев С.Н. Разработка технологии производства сырых колбас из конины с использованием биопрепаратов. Автореферат на соискание ученой степени кандидата технических наук, Семипалатинск 1996.
9. Мясные технологии. Специализированный информационный бюллетень №1 (13), январь 2004.
10. Мясные технологии. Специализированный информационный бюллетень №4 (16), апрель 2004.
11. Мясные технологии. Специализированный информационный бюллетень №5 (17), май 2004.
12. Мясные технологии. Специализированный информационный бюллетень №10 (22), октябрь 2004.
13. Мясные технологии. Специализированный журнал №9 (57), сентябрь 2007.
14. Мясные технологии. Специализированный журнал №9 (57), ноябрь 2007.
15. Азиев Д. П., Бахарев М.В. Влияние растительных порошков на качество вареных колбас. Хранение и переработка сельхозсырья, 2005, №3, с 47.
16. Антипова Л. В., Глотова И. А., Рогов И.А. Методы исследования мяса и мясных продуктов. - М.: Колос - С. 2004- 571 с.
17. Антипова Л. В., Глотова И.А. Основы рационального использования вторичного коллагенсодержащего сырья мясной промышленности. -Воронеж.- 1997.- с. 246.
18. Антипова Л. В. , Солободьяник В. С., Сулейманов С.М. Анатомия и гистология сельскохозяйственных животных - М.: Колос С, 2005- 384 с.
19. Амирханов К. Ж. Производства комбинированных полуфабрикатов. Обзорная информация, 1999

20. Анатомия пищевого сырья. - Учебно - методические указания г. Воронеж. Составитель - канд. ветеринарных наук, ст. преподаватель Крупицын В. В. Рецензент - канд. с-х наук, доцент Байлова Н.В. 2004.-23
21. А.С.Большаков, Л.М.Рейн. Н.П.Лушкин:-. Технология мяса и мясопродуктов. - М.: «Пищевая промышленность», 1976г. -398 с.
22. Технология мяса и мясопродуктов/ Л.Т.Алехина, А.С.Большаков, В.Г.Боресков и др.; Под ред. И.А.Рогова. -М.: Агропромиздат, 1988. -576 с., ил. -(Учебники и учебные пособия для студентов высших учебных заведений).
23. Гаптар С.Л. Разработка технологии формованного мясопродукта из конины с использованием многокомпонентного рассола. Автореферат на соиск. учен. степени канд. техн. наук. РК Семипалатинск., 2002-29 с.
24. Горфункель И. И. Товароведения мясных, рыбных, молочных и жировых товаров. М: Пищевая промышленность, 1999-521 с.
25. Козеева О. В. Обработка плазмы крови убойных животных биотехнологическим способом. М.: Теоретический журнал. Хранение и переработка сельхозсырья. № 1.- 2002. Месхи А. И. Биохимия мяса, мясопродуктов и птицепродуктов. - М.: «Легкая и пищевая промышленность», 1984г. -280 с.
26. Методы исследования мяса и мясных продуктов. -М.: КолосС, 2004. - 571 с.: ил. - (Учебники и учебные пособия для студентов высших учебных заведений).
27. Мурусидзе Д.Н. Технология производства продукции животноводства М.: КолосС 2005, 432 с.
28. Макаров В.А. Ветеринарно -санитарная экспертиза с основами технологии и стандартизации продуктов животноводства. М.: Агропромиздат, 1991-453 с.
29. Ратушный А.С. Применение ферментов для обработки мяса. -"М": "Издательство" "«Пищевая промышленность», 1976.
30. Интернет (<http://www.meat.ru/global/view.asp?id=192>)
31. Некоторые аспекты переработки крови убойных животных. М.: Пищевая промышленность 1995. № 1-25 с.
32. Пожарская Л. С., Либерман С. Г., Горбатов В.М. Кровь убойных животных и ее переработки. М.: Колос С, 1991 -500 с.
33. П.Е.Павловский, В.В.Пальмин. Биохимия мяса. - М.: «Пищевая промышленность», 1975г. -343 с.
34. Соколов А.А. Физико-химические и биохимические основы технологии мясопродуктов. М., «Пищевая промышленность», 1965, 490 с.
35. Судаков Н.В. Переработка и использовании крови убойных животных. М.: Пищевая промышленность. 1989-469 с.
36. Рогов И.А. Технология мяса и мясных продуктов. М.: КолосС,-1987-540
37. Тулеуов Е.Т. Разработка технологии комплексного использования конины и продуктов ее убоя с применением биотехнологических и физических методов обработки. Автореферат диссертация д. техн. наук. Кемерово 1999.

38. Уразбаев Ж.З. Разработка технологии использования цельной крови лошади в производстве комбинированных вареных колбасных изделий. Автореферат на соиск. учен. степени канд. техн. наук. Семипалатинск., 1996 - 16 с.

39. Микробиологические основы молочного производства; Справочник/Л.А. Банникова. И С. Королева, В.Ф Семенихина; Под ред. канд. техн. наук Я.И. Костина. - М.: Агропромиздат, 1987. - 400 с.

40. Антипова Л.В. Коллагенсодержащее сырье - источник создания экологически безопасных мясных продуктов высокой биологической ценности/Л.В. Антипова, И.А. Глотова, СВ. Полянских//Межд. конф. «Науч.-техн. прогрессе в перерабатывающих отраслях АПК»: Тез. докл., Москва, 16-18мая 1995 г./МГАПП. -1995. - С. 174.

41. Антипова Л.В. Микробные ферментные препараты для обработки вторичного сырья мясной промышленности / Л.В. Антипова, И.А. Глотова, Н.И. Кочергина Конференция "Биосинтез ферментов микроорганизмами": Тез. докл. Москва. 26-27 октября 1993 г. - М., 1993. - С. 33.

42. Патент РФ № 2311035, А 23В4 023 А 23L 1/31

43. Патент РФ № 2095990, А22 С 11/0

44. Предварительный патент РК № 14251, А 23 L1/31, С12N 9/00

45. Патент РФ № 2305943, А22 С 11/00