

БИОТЕХНОЛОГИЯ И МИКРОБИОЛОГИЯ

УДК 664.41+546.02+66.063.8

doi: 10.17223/19988591/18/3

А.А. Брачихин, А.А. Борисенко, А.Е. Черлянецв

Северо-Кавказский федеральный университет (г. Ставрополь, Россия)

ТЕОРЕТИЧЕСКОЕ ОБОСНОВАНИЕ ДЕНИТРИФИЦИРУЮЩЕЙ СПОСОБНОСТИ АКТИВИРОВАННЫХ ЖИДКИХ СРЕД В ТЕХНОЛОГИИ ПРОИЗВОДСТВА МЯСОПРОДУКТОВ

Методами молекулярного моделирования и квантово-химического анализа молекул нитрозо- и оксимиоглобина проведена оценка их стабильности в различных условиях. Рассмотрена возможность применения активированных жидких сред с показателями активной кислотности $pH=10,5-11,2$ ед. и отрицательных значений окислительно-восстановительного потенциала для формирования благоприятных условий для вовлечения нитрита натрия в реакции цветообразования в мышечной ткани мясного сырья. Отмечается возможность снижения остаточного нитрита натрия в готовых мясопродуктах за счет интенсификации процессов его трансформации в оксид азота, стабилизации нитрозомиоглобина и улучшения условий сохранения окраски в течение срока хранения мясопродуктов. Прогнозируется, что использование электрохимически активированных рассолов при их кавитационной дезинтеграции будут интенсифицировать процессы формирования цвета мясопродуктов. Осуществление процесса посола сырья в условиях вакуумирования и механической обработки мяса тумблированием позволит исключить вероятность окислительных изменений и предотвратит распад пигментов.

Ключевые слова: нитрозомиоглобин; оксимиоглобин; активированные жидкие среды; электрохимическая активация; кавитационная дезинтеграция; тумблирование.

Введение

Цветовые характеристики мясопродуктов зависят от содержания и строения пигментов, входящих в ткани мяса, их химических изменений после убоя, а также от методов и способов организации посола мясного сырья. Во избежание нежелательных изменений цветовых характеристик мясопродуктов вместе с посолочными компонентами вводят нитриты, которые обуславливают устойчивую розово-красную окраску мясных изделий.

Механизм образования цвета соленого мяса весьма сложен. Розово-красную окраску можно получить лишь при равномерном введении окиси азота в виде нитрита натрия. Обязательным условием реакции цветообразования является восстановление нитрита до окиси азота, что является лимитирующим фактором скорости процесса образования нитрозомиоглобина.

Проведены аналитические исследования существующих литературных данных, патентных источников, результатов теоретических и экспериментальных изысканий отечественных и зарубежных исследователей, выделены основные факторы, влияющие на процессы формирования и стабилизации цветовых характеристик мясопродуктов: технологические условия процесса посола, рецептура и физико-химические свойства посолочных рассолов, параметры термообработки. Из всей совокупности выделенных факторов особый научно-практический интерес представляют возможности направленного регулирования процессов цветообразования путем достижения оптимальных физико-химических свойств рассольных композиций (рН и окислительно-восстановительного потенциала – ОВП), применяемых для посола мясного сырья, а также технологические способы интенсификации процесса посола за счет механической обработки сырья.

Перспективные безреагентные способы регулирования восстановительных условий в мясных системах предложены ведущими учеными в области практического применения активированных жидких систем А.А. Борисенко и Л.А. Борисенко [1, 2]. Исследованиями Л.А. Борисенко установлено, что применение омагничивания шприцовочного и заливочного рассолов и их струйное введение в мышечную ткань PSE свинины позволяет получить продукт с лучшими цветовыми характеристиками по сравнению с традиционной технологией посола мяса NOR. Сочетание инъектирования омагниченных рассолов с последующим тумблированием сырья в наибольшей степени усиливает процесс цветообразования ветчинных изделий, позволяет улучшить органолептические свойства готового продукта, сократить срок посола, увеличить его выход [1].

В работах А.А. Борисенко отмечается, что применение щелочной фракции электроактивированной воды (ЩВ) при производстве варёных колбас с использованием белоксодержащих добавок благотворно действует на процессы их цветообразования [2]. Теоретические предпосылки возможного увеличения интенсивности и устойчивости окраски продуктов при использовании активированных рассолов связаны с поддержанием оптимального значения показателя рН и окислительно-восстановительного потенциала системы, что обуславливает создание благоприятных восстановительных условий в мясной системе, препятствующих или задерживающих образование метмиоглобина как непосредственно, так и за счёт уменьшения активности окислительных ферментов.

Результаты исследований в области практического применения электрохимически активированных растворов в качестве цветорегуляторов в технологии производства цельномышечных мясопродуктов [3] показали целесообразность использования рассольных композиций на основе щелочной фракции электрохимически активированной воды (ЭХА воды) с высокими показателями рН для формирования более стабильной окраски мясопродуктов с пониженным содержанием в них остаточного нитрита.

Целью исследования являлось теоретическое обоснование денитрифицирующей способности активированных жидких сред путем молекулярного моделирования и квантово-химического анализа окси- и нитрозомиоглобина мясной мышечной ткани.

Материалы и методики исследования

Теоретическое изучение свойств окси- и нитрозомиоглобина осуществляли методом молекулярного моделирования в программной среде HyperChem Professional 7.1 (разработчик Hypercube, Inc., США), согласно рекомендациям [4] и результатам практического апробирования метода в исследовательских работах различных авторов [5–9]. Данный метод предполагает моделирование органических и неорганических химических соединений в различных условиях с оценкой их энергетического состояния и химической активности. Возможно проведение квантово-химических расчетов таких систем методами молекулярной механики и динамики с высокой степенью достоверности.

Для установления распределения электростатического потенциала молекул оксимиоглобина и нитрозомиоглобина проведен расчет частичных зарядов на выделенном гем-фрагменте белка методом ZINDO/1 (полуэмпирический метод) [4]. Метод ZINDO/1 является вариантом метода частичных пренебрежений с дифференциальным перекрыванием, адаптированного для проведения расчетов молекул, включающих атомы переходных элементов. ZINDO/1 позволяет вычислять энергетику и геометрию молекул, содержащих переходные металлы.

Результаты исследования и обсуждение

С учетом отмечаемого многими исследователями положительного влияния активированных жидких сред на формирование окраски мясопродуктов представляет научно-практический интерес анализ химической активности пигментов мышечной ткани (нитрозомиоглобина), а также промежуточных продуктов их образования (оксимиоглобина) в целях обоснования механизма цветообразования при использовании таких активированных сред в качестве основы рассольных композиций в технологии мясопродуктов.

В каталоге базы данных белков Protein Data Base [10] выбрана молекула оксимиоглобина, состоящая из 153 аминокислотных остатков. Для оценки химической активности оксимиоглобина проведена геометрическая оптимизация молекулы белка в водном растворе методами молекулярной механики MM+ [4], которая позволила рассчитать величину ее общей энергии ($E = -1863,875$ ккал/моль), градиент ($G = 0,09921$ ккал/(моль·Å)) и дипольный момент (60,16 D).

Известно, что гем в молекуле миоглобина окружен неполярным белком, благодаря чему при присоединении кислорода железо гема не окисляется. Ввиду гидрофобности белка [11] он будет оказывать незначительное

влияние на процессы присоединения кислорода. В этой связи дальнейшие расчеты следует вести для фрагмента оксимиоглобина, состоящего из гема с присоединенным к нему кислородом, а также связанного с ним аминокислотного остатка гистидина. Аналогичный подход вполне правомерен и также использовался другими авторами. Так, например, при исследовании взаимодействия миоглобина с лактулозой авторы проводили молекулярное моделирование с гем-фрагментом миоглобина [5].

Расчет частичных зарядов в гем-фрагменте указывает на формирование достаточно прочной связи двухвалентного железа гема с кислородом O_2 – формируется область с избытком электронной плотности (рис. 1). Отрицательный электростатический потенциал ориентирован в направлении присоединенного к гему кислорода.

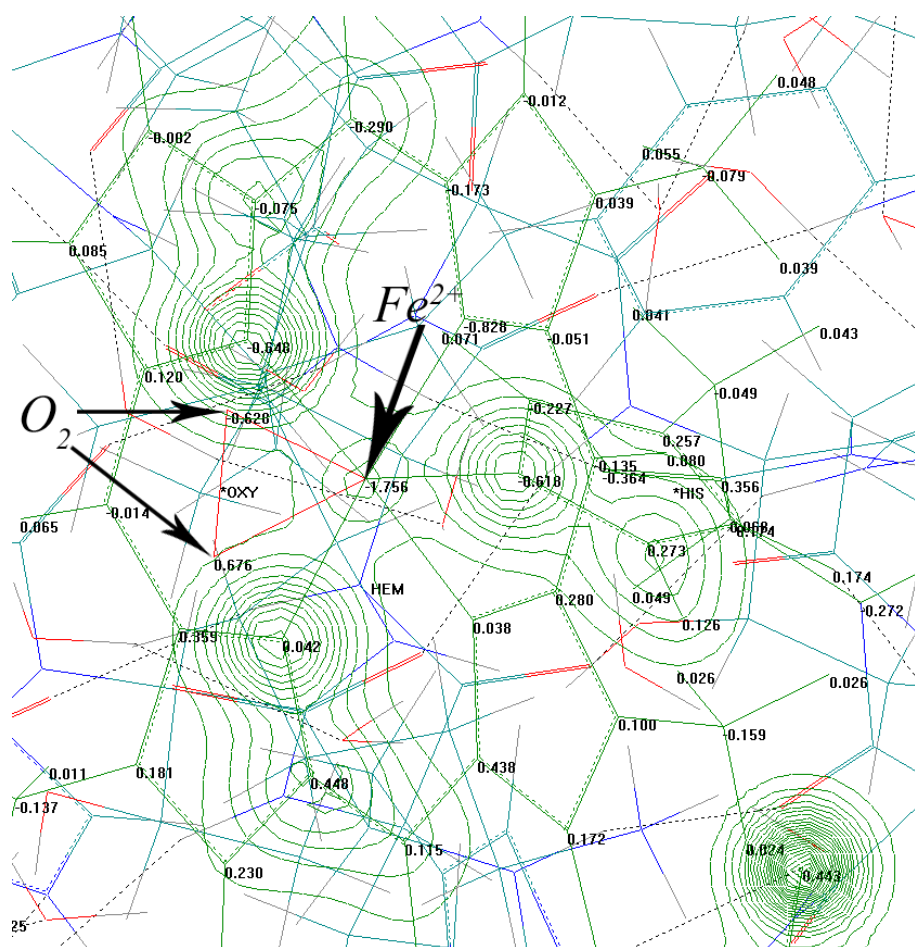


Рис. 1. Карта распределения электронной плотности фрагмента оксимиоглобина

Аналогичная оптимизация геометрии нитрозомиоглобина позволила установить энергетические параметры системы $E = -1785,635$ ккал/моль, градиент $G = 0,09595$ ккал/(моль·Å) и дипольный момент системы 32,61 D.

В сравнении с оксимиоглобином конформация нитрозомиоглобина имеет меньшую энергию и меньшее значение дипольного момента, характеризующего разности плотностей отрицательного и положительного центров молекулы.

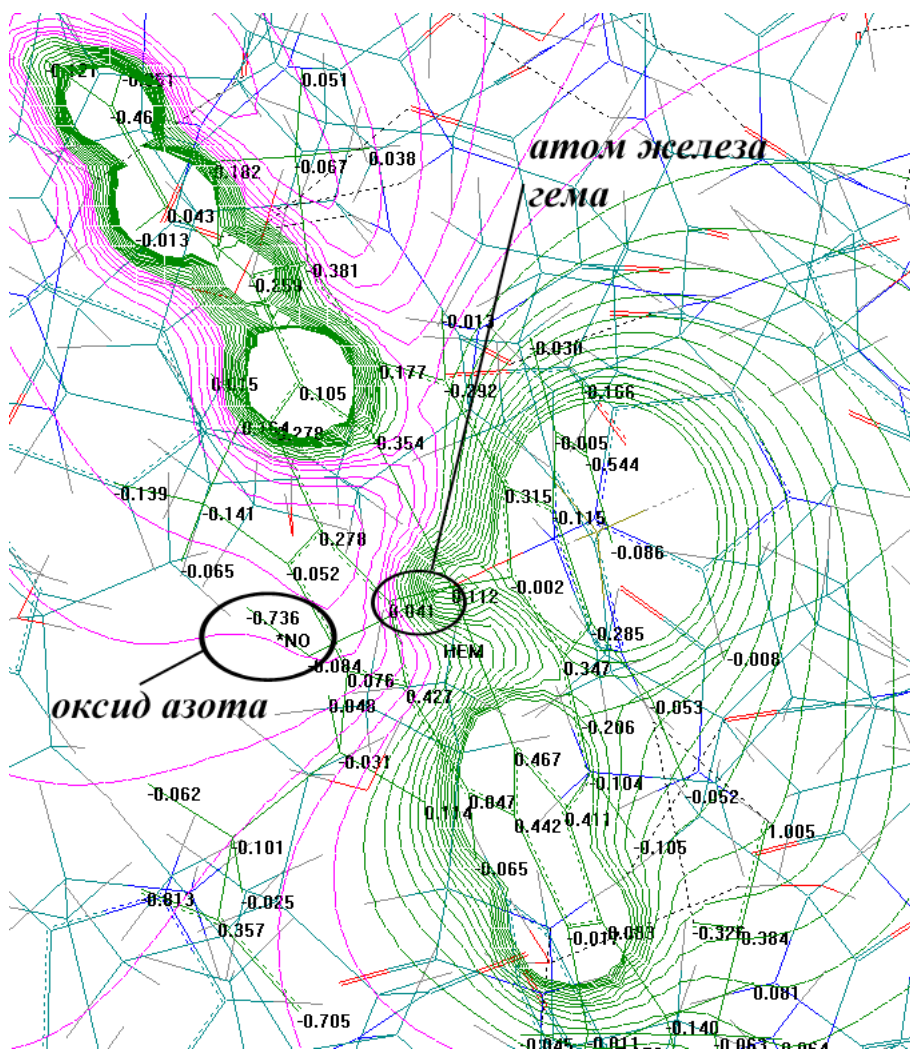


Рис. 2. Карта распределения электростатического потенциала в гем-фрагменте нитрозомиоглобина

В представленном на рис. 2 гем-фрагменте наблюдается формирование областей с еще большей электронной плотностью, нежели у оксимиоглобина, на

концевых участках пиррольных колец гема. Области с дефицитом электронной плотности направлены в сторону азота имидазольного кольца гистидина и определяют пятую координационную связь атома железа в гем-фрагменте.

Области с высокой электронной плотностью направлены в сторону шестой координационной связи атома железа с оксидом азота. Следует отметить, что заряд атома железа в нитрозомиоглобине (0,041) изменил знак и имеет малый заряд, при этом активный центр сместился от атома железа к атому кислорода оксид азота.

Области с высокой электроотрицательностью формируются на атоме кислорода оксида азота (–0,736), а также на концевых –COO участках III и IV пиррольных колец гема (–0,705), что характеризует их как внешние активные центры гема.

В щелочных средах (например, ЩВ ЭХА-воды) такие центры будут отталкивать одноименно заряженные гидроксильные ионы и стабилизировать пигмент, предотвращая его окисление до метмиоглобина.

Установлено, что оптимальный уровень активной кислотности для образования нитрозомиоглобина $pH = 5,6$ [12]. С помощью программы расчета количества отрицательно и положительно заряженных групп белка, разработанной профессором А.А. Борисенко [13], установлено, что при указанном значении pH количество отрицательно и положительно заряженных групп миоглобина практически равно. При таких условиях глобин молекулы фактически является электронейтральным и не влияет на процесс присоединения оксида азота или кислорода к гему миоглобина.

При смещении активной кислотности среды в область слабощелочных значений ($pH = 7,0–7,5$) количество отрицательно заряженных групп белка увеличивается в 1,3–1,5 раза, что приводит к поляризации молекулы белка. Смещение заряда белка в отрицательную сторону приводит к формированию электростатического отталкивания с одноименно заряженными ионами, что предотвращает его дальнейшее окисление и способствует стабилизации нитрозомиоглобина.

В рамках проводимых исследований, направленных на установление возможности направленного регулирования свойств активированных жидких сред, с учетом результатов молекулярного моделирования (рис. 1, 2) прогнозируется эффективность применения активированных рассольных композиций на основе католита при производстве мясопродуктов в качестве цветорегулирующего фактора, влияющего на процессы формирования их окраски.

Растворы поваренной и нитритной соли, приготовленные на основе ЩВ, обладают высокими значениями pH (10,5–11,2 ед.) и низким ОВП (–250 ÷ –300 мВ). Достаточно высокие показатели pH системы благоприятно влияют на формирование водоудерживающих характеристик готовых мясопродуктов, при этом общий показатель pH мышечных белков при установившихся условиях находится на уровне 5,5–6,0 ед., что также положительно сказывается на интенсивности протекания реакций цветообразования.

Заключение

Результаты проведенного молекулярного моделирования и анализа оксигемоглобина позволяют прогнозировать возможности регулирования процессов цветообразования в технологии мясопродуктов при использовании рассольных композиций с заданными показателями рН и ОВП, в частности при использовании активированных жидких сред.

Наложение дополнительного активирующего воздействия посредством кавитационной дезинтеграции [14] в большей степени будет интенсифицировать процессы формирования цвета мясопродуктов. При кавитационной обработке раствора поваренной и нитритной соли существенным образом интенсифицируются процессы диссоциации солей на ионы, что в присутствии восстановителей (например, лактозы) ускорит образование оксида азота и его взаимодействие с миоглобином мышечной ткани. Интенсивная диссоциация нитрита при кавитационной обработке также будет способствовать его более полному вовлечению в реакции цветообразования и сокращению остаточного содержания в готовых мясопродуктах, что улучшит их биологическую безопасность. ОВП таких рассолов находится в области отрицательных значений или близко к нулю, что будет инициировать более вероятностное протекание восстановительных реакций и способствовать стабилизации окраски готовых мясопродуктов. Применение при посоле мясного сырья дополнительного механического воздействия тумблированием будет способствовать более равномерному распределению посолочных ингредиентов, в том числе и нитрита натрия, по объему мяса и достижению равномерной окраски цельномышечных мясопродуктов. Кроме того, гистологическими исследованиями установлено [1], что интенсивная механическая обработка способствует разрыхлению структуры мышечного волокна, что существенным образом облегчит доступ продуктов восстановления нитрита к миофибриллярным белкам мышечной ткани и тем самым ускорит образование нитрозомиоглобина. Одновременно обеспечение вакуумирования при тумблировании мясного сырья исключит вероятность окислительных изменений и предотвратит распад пигментов. Установлено, что в условиях вакуума нитрозомиоглобин остается стабильным и не теряет связанной окиси азота в течение неограниченного времени [15].

Результаты исследования были представлены автором на Международной молодежной научной школе «Пищевые технологии и биотехнологии» (Томск, 18–22 июня 2012 г.), организованной ФГБ ОУ ВПО «Национальный исследовательский Томский государственный университет» в рамках ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России на 2009–2013 годы» (ГК № 12.741.11.0112 от 14 мая 2012 г.).

Литература

1. Борисенко Л.А., Борисенко А.А., Брацихин А.А. Биотехнологические основы интенсификации производства мясных соленых изделий : учеб. пособие. М. : ДеЛи принт, 2004. 168 с.
2. Борисенко А.А., Чичко А.А. Изучение влияния активированной многокомпонентной системы на качественные характеристики колбасных изделий // Материалы международной НПК «Проблемы и перспективы совершенствования производства пищевых продуктов с высокими потребительскими свойствами на основе улучшения качества животноводческого сырья». Волгоград, 2002. Т. 3.
3. Виноградова Н.А., Борисенко Л.А., Борисенко А.А. и др. Изучение влияния электроактивированных жидких систем на формирование цветовых и качественных характеристик мясных изделий // Труды Кубанского аграрного университета. 2008. № 11. С. 32–36.
4. Соловьев М.Е., Соловьев М.М. Компьютерная химия. М. : СОЛОН-Пресс, 2005. 536 с.
5. Шипулин В.И. Денитрифицирующая способность лактулозы и ее использование при производстве вареных колбас // Сборник докладов XI Международной конференции «Тенденции и перспективы развития инновационных и информационных технологий перерабатывающей промышленности. М. : ВНИИ мясной промышленности, 2008. С. 181–186.
6. Рогачева С.М. Роль водной компоненты и полисахаридов клеточной поверхности в процессах коммуникации живых систем: анализ молекулярных моделей : автореф. дис. ... д-ра биол. наук. Воронеж, 2008. 40 с.
7. Серов А.В. Теоретическое обоснование и экспериментальные исследования химико-технологических проблем получения, определения и использования лактозы и ее производной лактулозы : дис. ... д-ра техн. наук. Ставрополь, 2004. 308 с.
8. Соловей А.Б., Лобышев В.И. Промежуточный максимум на кривой радиального распределения воды и его связь с топологией сетки водородных связей в жидкой воде // Физическая химия. 2006. № 10. С. 185–189.
9. Шапошник В.А. Кинетическая теория водных растворов электролитов // Вестник Воронежского государственного университета. Сер. Химия. Биология. Фармация. 2003. № 2. С. 81–85.
10. Protein Data Base. URL: <http://www.rcsb.org/pdb>
11. Рахимов Р.Х. Керамические материалы и их применение. Ташкент : Изд-во УзПФИ-ТИ, 2002. Ч. II. 667 с.
12. Крылова Н.Н., Ляковская Ю.Н. Биохимия мяса. М. : Пищевая промышленность, 1968. 351 с.
13. Борисенко А.А. Теоретические и практические аспекты полифункционального использования электроактивированных жидкостей в технологии производства мясопродуктов : дис. ... д-ра техн. наук. Ставрополь, 2002. 505 с.
14. Шестаков С.Д. Основы технологии кавитационной дезинтеграции. М. : ЕВА-пресс, 2001. 173 с.
15. Жаринов А.И., Кузнецова О.В., Черкашина Н.А. Краткие курсы по основам современных технологий переработки мяса, организованные фирмой «Протеин Технолоджиз Интернэшнл». Ч. II: Цельномышечные и реструктурированные мясопродукты. М. : Протеин Технолоджиз Интернэшнл, 1997. 178 с.

Поступила в редакцию 27.05.2012 г.

Andrey A. Bratsikhin, Alexsey A. Borisenko, Anton E. Tcherlyantsev

North-Caucasus Federal University, Stavropol, Russia

THEORETICAL JUSTIFICATION OF DENITRIFICATION PROPERTIES OF ACTIVATED LIQUIDS IN MEAT PRODUCTS PRODUCTION

The main factors influencing the processes of forming and stabilizing meat products color characteristics were established. They are technological conditions of meat salting, formulation, physical and chemical properties of brines and thermal treatment parameters.

There was noted the possibility of reinforcement regulation of color forming process by achieving the optimum in physical and chemical properties of brine multicomponents compositions (pH and redox potential) that are used for raw meat salting, as well as technological methods of salting process intensification by using raw stuff mechanical treatment. The most promising method of non-chemical regulation of reducing condition in meat systems is the usage of activated liquid systems. Such types of liquids are produced by electrochemical activation. During research work, the rating of oxymyoglobin and nitrozomyoglobin molecules stability in different conditions was studied by using molecular modeling and quantum-chemical analysis methods. Theoretical study of oxymyoglobin and nitrozomyoglobin properties was conducted by means of molecular modeling method in special program HyperChem Professional 7.1. To define electrostatic potential distribution in oxymyoglobin and nitrozomyoglobin molecules, the calculation of partial charges in isolated heme-fragment of protein was carried out with the help of ZINDO/1 method. There was examined a possibility of activated liquid systems, with the level of pH=10,5–11,2 and negative level of redox-potential used for favourable conditions creation in the process of color forming in muscular tissue of meat with introducing nitrite sodium. There was noted a possibility of nitrite remains reduction in meat products due to intensification of nitrite sodium transformation into nitric oxide and nitrozomyoglobin stabilization and improving the conditions of color preservation during meat products storage life. It is predicted that using electrochemical activated brines after their cavitational disintegration will intensify the color forming processes in meat products. In addition, the intensive dissociation of nitrite sodium under cavitational treatment will contribute to its introducing in color forming reaction in the main quantity and reducing its remains in meat products. The same effect makes it possible to improve the safety of meat products. The realization of meat salting process under vacuum gauge and raw meat mechanical treatment by tumbling allows to exclude the possibility of oxidation changes and to avoid degradation of meat colorants.

Key words: nitrozomyoglobin; oxymyoglobin; activated liquid systems; electrochemical activation; cavitational disintegration; tumbling.

Received May 27, 2012