

*Т.Н. Маевская, к.т.н.,
С.М. Базиволяк, к.с.-х.н., доц.,
Национальный университет биоресурсов и природопользования Украины
Л.В. Пешук, д.с.-х.н., проф.,
Национальный университет пищевых технологий*

ПРИМЕНЕНИЕ МИКРОБНОЙ ТРАНСГЛУТАМИНАЗЫ В ТЕХНОЛОГИИ СУРИМИ ИЗ ПТИЦЫ

Для Украины и мира в целом является актуальным вопрос переработки кур-несушек после продуктивного использования и мяса механической обвалки цыплят-бройлеров. Одним из способов использования данного вида сырья в качестве источника пищевого полноценного белка может быть производство промытого фарша – сурими. Сложность технологического процесса промывки заключается в наличии в непромытой массе значительной части жира, крови, коллагена, что усложняет концентрирование миофибриллярных белков и получение более полноценного продукта с длительным сроком хранения. Использование электрохимически активированных систем позволяет устранить указанные недостатки, но гелеобразующие свойства уступают уровню сурими из рыбы. Представляется целесообразным их улучшение путем применения экзогенной формы транsgлутаминазы – фермента микробного происхождения. Целью настоящих исследований являлась оценка действия транsgлутаминазы на образование изопептидных связей в промытом фарше из мяса птицы. Для достижения цели получены изображения гелей методом сканирующей электронной микроскопии, проведен анализ количества полигональных структур на единицу площади, сравнены показатели активности воды и влагоудерживающей способности во взаимосвязи с микроструктурой. Представленные данные свидетельствуют об эффективности катализа образования белковых цепей препаратами транsgлутаминазы. Полученные результаты могут быть использованы в технологиях импортозамещающих продуктов из отечественного малоценного сырья.

Ключевые слова: микроструктура, мясо птицы, промывка, сурими, транsgлутаминаза, электроактивированный раствор.

Для України та світу в цілому є актуальним питання переробки курей-несучок після продуктивного використання і м'яса механічної обвалки курчат-бройлерів. Одним зі способів використання даного виду сировини в якості джерела харчового повноцінного білка може бути виробництво промитого фаршу – сурімі. Складність технологічного процесу промивання полягає в наявності в непромитій масі значної частини жиру, крові, колагену, що ускладнює концентрування міофібрилярних білків і отримання більш повноцінного продукту з тривалим терміном зберігання. Використання електрохімічно активованих систем дозволяє усунути зазначені недоліки, але гелеутворюючі властивості поступають рівню сурімі з риби. Представляється доцільним їх поліпшення шляхом застосування екзогенної форми транsgлутамінази – ферменту мікробного походження. Метою цих досліджень було оцінювання дії транsgлутамінази на утворення ізопептидних зв'язків у промитому фарші з м'яса птиці. Для досягнення мети отримано зображення гелів методом скануючої електронної мікроскопії, проведено аналіз кількості полігональних структур на одиницю площі, порівняно показники активності води і вологоутримувальної здатності у взаємозв'язку з микроструктурою. Представлені дані свідчать про ефективність каталізу утворення білкових ланцюгів препаратами транsgлутамінази. Отримані результати можуть бути використані в технологіях імпортозамінних продуктів з вітчизняної малоцінної сировини.

Ключові слова: електроактивований розчин, мікроструктура, м'ясо птиці, промивання, сурімі, трансглютаміназа.

The issue of egg-production hens processing after their productive use and mechanically deboned meat of broiler chickens is of great importance for Ukraine and the whole world. One of the ways of using this raw material as a source of food protein could be production of forcemeat – surimi. The difficulties of technological cleaning process consist of the presence of a considerable amount of fat, blood, collagen in uncleansed mass that complicate the concentration of myofibrillar proteins and obtaining of more valuable product with long usage period. Usage of electrochemically activated systems allows removing mentioned disadvantages, but gel-forming properties give way to fish surimi level. It is desirable to improve them through using of exogenous form of transglutaminase – enzyme of microbe origin. The object of current research was an estimation of transglutaminase affect on isopeptide bonds in cleansed poultry forcemeat. To fulfill this object the gel pictures were obtained using the method of scanning electronic microscopy, the analysis of polygonal structures amount per area unit was conducted, indices of water activity and water-keeping ability in connection with microstructure were compared. The obtained results can be used in technologies of import-replaced products made of native non-valuable material.

Keywords: electroactivated solutions, microstructure, poultry meat, surimi, transglutaminase, washing.

Постановка проблеми. Увеличение в Украине объемов производства свежего мяса птицы в 2014 г. до уровня 710 тыс. т (на 3 % выше уровня 2011 г.) и 160 тыс.т мороженого (больше чем в два раза выше уровня 2011 г.) делает актуальной разработку эффективных технологий переработки мяса цыплят-бройлеров механической обвалки [Ошибка! Источник ссылки не найден, с.59]. В то же время, постоянный рост количества производимых яиц (19587 млн. шт. в 2014 г.) [Ошибка! Источник ссылки не найден, с.91] является стимулом для поиска новых технологических решений в переработке мяса птицы кур-несушек и родительского стада после примышленного использования.

Анализ последних исследований и публикаций. Возможным путем обработки указанных видов сырья может быть промывка механически сепарированного мяса водопроводной водой и различными растворами для удаления белков саркоплазмы, небелковых азотистых веществ, части жира. В результате промывки срок хранения промытого фарша – сурими, увеличивается вдвое – с 3 до 6 мес. [Ошибка! Источник ссылки не найден.].

Полученный продукт по реологическим свойствам уступает традиционному сурими из рыбы [0]. Однако повышение гелеобразующей способности можно достичь с помощью биотехнологического подхода. В этом контексте является эффективным и перспективным микробный фермент трансглютаминаза (MTGase; белок-глютамин гамма-глютаминилтрансфераза (ЕС 2.3.2.13) [0, 0]. Она катализирует реакции ацилпереноса, деамидирование и полимеризацию между внутри- или межцепочечными гамма-карбоксамидными группами глутамина (ацил донор) и свободными аминокгруппами лизина (ацил акцептор) [0].

Реакции, катализируемые ферментом, создают глубокие изменения в матрице пищевых белков, ведущие к улучшению текстуры и стабильности в условиях изменения температуры и синерезиса, увеличению эмульгирующей, гелеобразующей, влагоудерживающей способности без изменения рН, цвета, вкуса и пищевой ценности продуктов, или возможного образования незаменимых аминокислот [0, 0].

Для описания изменений на уровне макромолекул в белковых матрицах различных продуктов, и в частности сурими, целесообразно использовать методы сканирующей электронной микроскопии [0].

В связи с этим целью работы являлось исследование эффективности катализа образования изопептидных связей микробной транслугтаминазой на основании оценки микроструктуры гелей сурими из птицы.

Материалы и методы. В качестве основного сырья для промывки принята смесь мяса механической обвалки цыплят-бройлеров (50 %) производства ЧАО «Мироновская птицефабрика» (одна из крупных птицефабрик Украины) и мяса ручной обвалки кур-несушек после производственного использования (50 %), которые содержались в учебно-научно-производственной лаборатории «Технологии в птицеводстве» НУБиП Украины. Мясо, полученное от кур-несушек, предварительно измельчали на волчке.

Смесь фарша промывали электрохимически активированным раствором хлорида натрия. Электролиз проводили в мембранном электролизере с керамической мембраной АП-1. Водородный показатель (рН, активную кислотность) определяли потенциометрическим методом согласно ГОСТ 28972 с использованием рН – метра рН–150 МИ. Перед использованием промывные жидкости охлаждали до необходимой температуры в бытовом холодильнике. Их температуру контролировали стеклянным ртутным термометром согласно ГОСТ 13646-68. Полученные в процессе промывки системы центрифугировали (MPW-260/R/RH) при 45000 g в течение 15 мин для отделения промывной жидкости.

После центрифугирования сурими разделяли на две части. Первую направляли на термообработку (контроль), а во вторую вносили 0,01 % транглугтаминазы (опыт) Activa® GS (Ajinomotofoods Europe SAS, Hamburg Branch). Все образцы промытого фарша термостатировали в ультратермостате Ultratherm BWT-U BIOSAN для получения гелей камабоко и оценивали микроструктуру. Условия золь-гель перехода: сувари 30 °C 10 мин; модори 65 °C 15 мин; камабоко 90 °C 10 мин.

Исследования микроструктуры гелей камабоко проводили с использованием растрового электронного микроскопа JSM 35 C (JEOL, Токио, Япония) в режиме вторичных электронов при напряжении ускорения электронов 35 кВ. Образцы фарша, принятые для исследования, помещали на предметные столики, замораживали в морозильной камере (минус 18 °C) с последующим 12-ти часовым лиофильным высушиванием при температуре минус 40 °C и вакууме 0,13 Па. С целью устранения накопления поверхностного заряда образцов при сканировании электронным пучком и получения контрастного изображения на образцы методом катодного напыления наносили тонкий слой золота. Для определения количества полигональных структур на электронных микрофотографиях использовали программный пакет ImageJ, разработанный Wayne Rasband, National Institutes of Health, Bethesda, MD, US.

Для сравнительного анализа дополнительно исследовали активность воды с помощью прибора HygroPalm HP23-AW (Великобритания) по «точке росы» согласно ДСТУ ISO 21807:2007, а также определяли влагоудерживающую способность методом прессования [0].

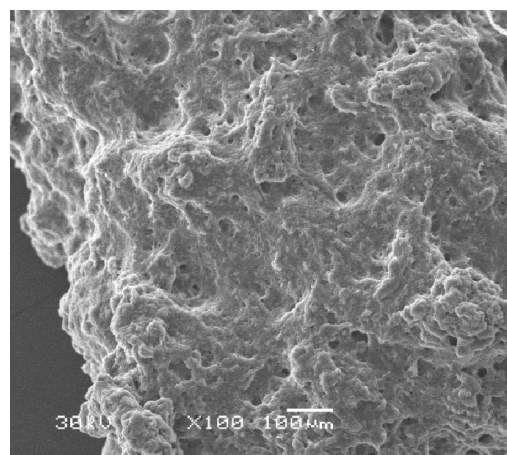
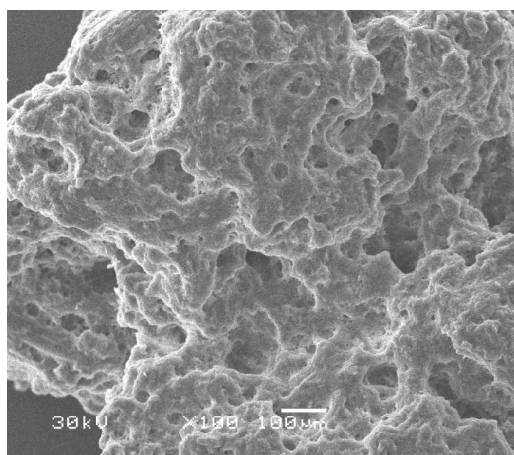
Изложение основного материала. В результате исследований получены микрофотографии гелей сурими из птицы (рис. 1-2) при различном разрешении.

Их анализ свидетельствует, что впоследствии обработки и нагревания, миофибриллярные белки были перестроены и приобщены, что привело к трехмерному решетчатому белковому образованию. Без внесения препарата транслугтаминазы структура геля грубая, пористая. Сеть перекрестных белковых взаимодействий нерегулярная и прерывистая. Наличие плотной области, которую сформировали миофибриллярные сети белкового геля, сменяется воздушными ямами.

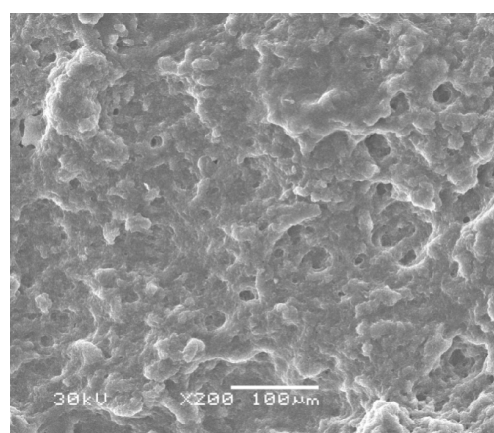
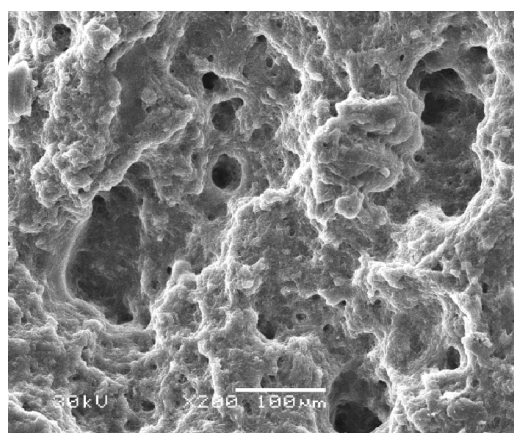
Наблюдаются крупные размеры пустот. Однако деградация белков эндогенными протеазами не выражена так ярко, как в случае традиционной промывки водопроводной водой и растворами солей [11].

Контроль

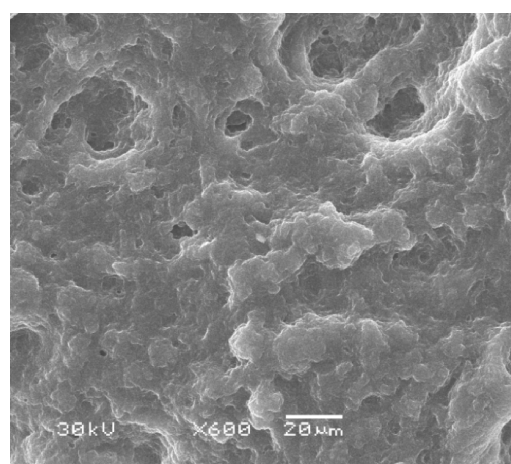
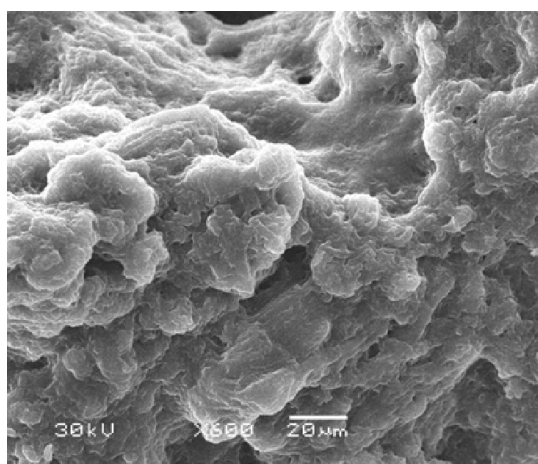
Опыт



а



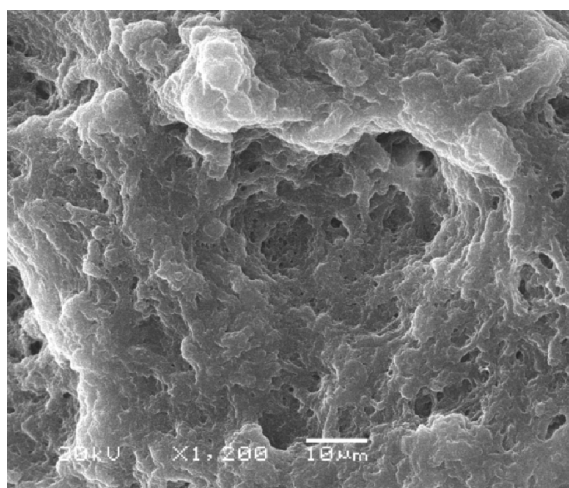
б



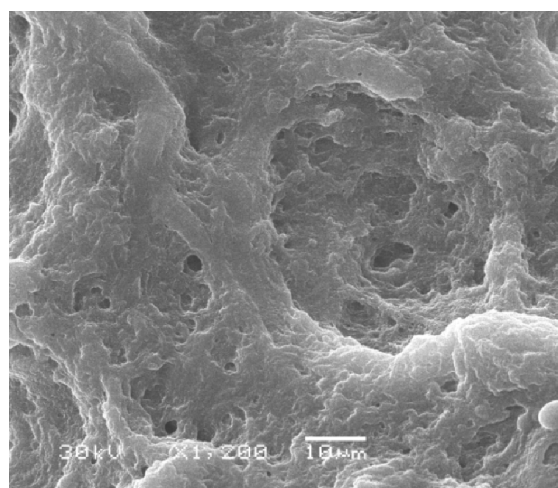
в

Рис. 1. Микроструктура рыбных гелей, увеличение:
а – 100; б – 200; в – 600

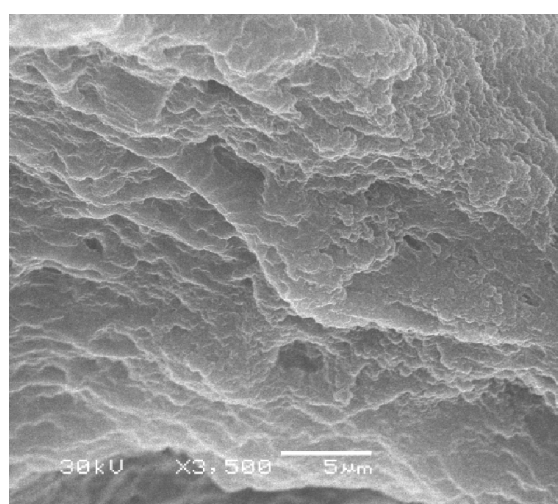
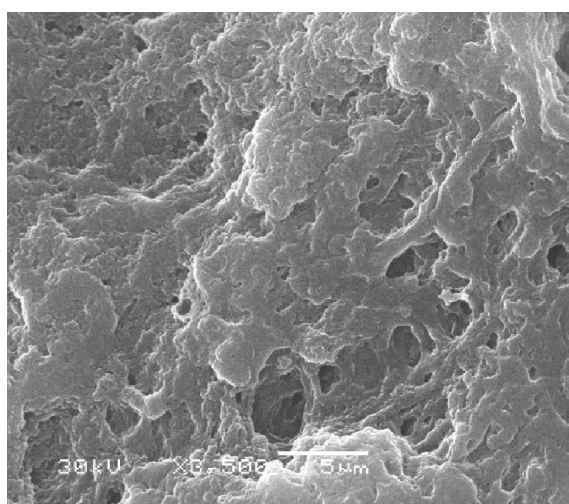
Контроль



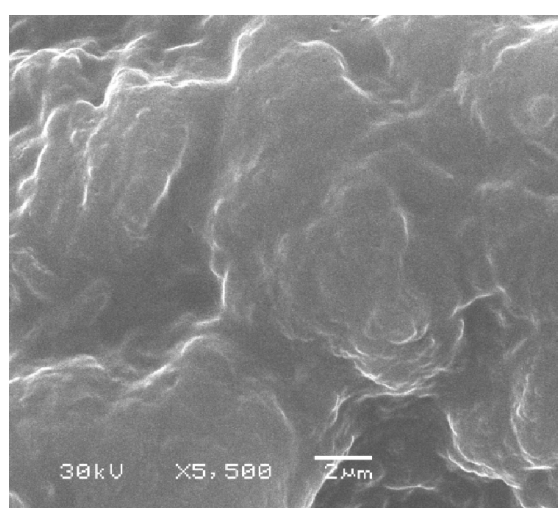
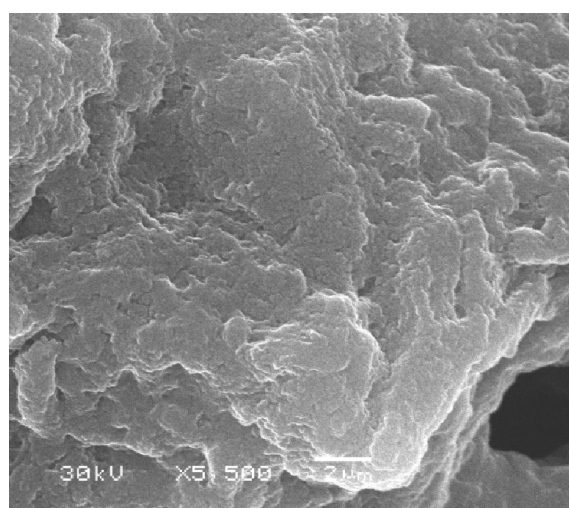
Опыт



а



б



в

Рис. 2. Микроструктура рыбных гелей, увеличение:
а – 1200; б – 3500; в – 5500

Очевидно, данный эффект объясняется более мягким воздействием электрохимически активированных растворов хлорида натрия со смещенными значениями pH и ОВП на нативность миофибриллярной фракции. Также можно предположить, что высокая экстракционная способность анолитов и католитов, как отмечалось нами ранее [0], приводит к более полному удалению саркоплазматических белков, среди которых преобладают мышечные катепсины. Это, в свою очередь, подтверждает правильность выбора промывных систем для получения сурими из мяса механической сепарации, как цыплят-бройлеров, так и кур-несушек.

В отличие от контрольного образца, микробная трансглутаминаза способствует образованию более компактной и однородной структуры, о чем свидетельствуют полученные изображения. Белковые кластеры образуют плотную матрицу с более гладкой поверхностью, чем без использования экзогенного фермента. Структурные единицы сотовидной сети единообразные, что особенно очевидно при высоком разрешении.

Такая микроструктура способна в большей степени удерживать воду и противодействовать деформации, в отличие от хрупкости образцов без внесения добавки.

Структурированность белковых конгломератов вероятнее всего связана с высокой степенью «cross-link» миозина и актина впоследствии активности трансглутаминазы, поскольку ковалентные связи такого рода устойчивы к протеолизу [0]. Кроме этого, следует отметить возможное синергирующее действие фермента и электрохимически активированных систем. Поскольку в случае применения других промывных жидкостей отдельно взятый эффект воздействия фермента менее выражен [0].

Пористость образцов, как известно, объясняется потерей остаточной капиллярной влаги во время модоризации геля. Следовательно, результаты анализа микроструктуры свидетельствуют, о более высоком влагосодержании и организованности белковых цепей в случае применения биотехнологического подхода в технологии сурими.

Среди прочего, эффективность реакции каталитического образования полимеров была проанализирована по данным количества полигональных структур, активности воды, влагоудерживающей способности (табл.1). Анализ величин определяемых показателей позволяет говорить о достоверности выводов к описанию микроструктуры. Так, применение трансглутаминазы позволяет получить более сочные продукты (на 10,7 % выше влагоудерживающая способность) и высокой стойкостью к развитию микроорганизмов (на 0,012 ед. ниже активность воды).

Таблица 1

**Сравнительные характеристики гелей камабоко из промытого фарша
птицы ($n=3$; $P \geq 0,95$)**

Наименование показателя	Промытый фарш	
	без добавок (контроль)	с внесением трансглутаминазы
Количество полигональных структур, мм ⁻²	405	562
Активность воды, ед.	0,996	0,984
Влагоудерживающая способность, %	73,5	84,2

Выводы

1) В результате исследований установлена высокая эффективность использования экзогенной трансглутаминазы для образования перекрестных связей в

белковых гелях сурими, формирования однородной микроструктуры и уменьшения пористости.

2) Выявлено, что применение ферментного препарата способствует увеличению количества полигональных структур на 28 %, которые свидетельствуют об образовании большего количества белковых конгломератов.

3) Подтверждено повышение влагоудерживающей способности на 10,7 %, что составляет 14,56 % относительно контроля.

4) Доказано снижение активности воды в опытном образце на 1,2 % соответственно, что в свою очередь указывает на лучшую хранимость продукта.

5) В дальнейших исследованиях необходимо проанализировать аминокислотный состав гелей после образования изопептидных связей под действием препаратов микробной трансклутаминазы.

Литература

1. Україна у цифрах 2014 : статистичний збірник [за ред. І. М. Жук]. – К.: Державна служба статистики України, 2015. – 239 с.

2. Сэме Р. А. Переработка мяса птицы / под ред. Алана Р. Сэмса; [пер. с англ. под науч. ред. В. В. Гущина]. — СПб.: Профессия, 2007. – С. 333-334.

3. The development of imitation crab stick containing chicken breast surimi / Jin S. K., Hur I. C., Jeong J. Y. [et al.] // LWT-Food Science and Technology. – 2009. – Vol. 42, Is. 1. – P. 150-156.

4. Stangierskia J. Analysis of the effect of heating on rheological attributes of washed mechanically recovered chicken meat modified with transglutaminase / J. Stangierskia, R. Rezlerb, G. Lesnierowskia // Journal of Food Engineering. – 2014. – Vol. 141. – P. 13-19.

5. Ramadhan K. Effect of number and washing solutions on functional properties of surimi-like material from duck meat / K. Ramadhan, N. Huda, R. Ahmad // Journal of food science and technology. – 2014. – Vol. 51, Is. 2. – P. 256-266.

6. Kieliszek M. Microbial transglutaminase and its application in the food industry. A review / M. Kieliszek, A. Misiewicz // Folia microbiologica. – 2014. – Vol. 59, Is. 3. – P. 241-250.

7. Gaspar A. L. C. Action of microbial transglutaminase (MTGase) in the modification of food proteins : A review / A. L. C. Gaspar, S. P. de Goes-Favoni // Food chemistry. – 2015. – Vol. 171. – P. 315-322.

8. Transglutaminase in food biotechnology. Recent Research Developments in Food Biotechnology / Mariniello L., DiPierro P., Giosafatto C. V. L. [et al.] // Enzymes as Additives or Processing Aids, 2008. – P. 185-211.

9. Fazaeli M. Characterization of food texture : application of Microscopic technology / M. Fazaeli, M. Tahmasebi, Z. E. Djomeh // Current Microscopy Contributions to Advances in Science and Technology. – Formatex Research Center, 2012. – P. 855-871.

10. A comparative study of chemical composition, color, and thermal gelling properties of normal and PSE-like chicken breast meat / Li K., Chen L., Zhao Y. Y. [et al.] // CyTA-Journal of Food. – 2015. – Vol. 13, Is. 2. – P. 213-219.

11. Stangierski J. The Influence of Heating and Cooling Process on the Water Binding in Transglutaminase-Modified Chicken Protein Preparation. Assessed Using Low-Field NMR / J. Stangierski, H. M. Baranowska // Food and Bioprocess Technology. – 2015. – Vol. 8, Is. 12. – P. 2359-2367.

12. Маєвська Т. М. Порівняльна характеристика рибних фаршів, промитих водопровідною водою та електрохімічно активованими системами / Т. М. Маєвська, О. С. Віннов // Наукові праці НУХТ. – 2013. – № 52. – С. 103-109.

13. Hrynets Y. Transglutaminase-catalyzed glycosylation of natural actomyosin (NAM) using glucosamine as aminedonor : Functionality and gel microstructure. / Y. Hrynets, M. Ndagijimana, M. Betti // Food Hydrocolloids. – 2014. – Vol. 36. – P. 26-36.