

ПОЛУЧЕНИЕ ФЕРМЕНТНОГО РАСТВОРА ИЗ ГОВЯЖЬЕГО ЦЕЛЬНОГО СЫЧУГА ДЛЯ МОДИФИКАЦИИ СВОЙСТВ КОЛЛАГЕНСОДЕРЖАЩЕГО РУБЦА

Баженова Б.А.*, Данилов А.М.

Восточно-Сибирский государственный университет технологий и управления, Улан-Удэ, Россия

Ключевые слова: рубец, сычуг, пепсин, модификация, индекс фрагментации, функционально-технологические показатели.

Аннотация

В настоящее время накоплен значительный опыт эффективной переработки вторичных сырьевых ресурсов мясной промышленности. Однако доля использования их на пищевые цели остается низкой. Это, прежде всего, касается переработки многокамерных желудков сельскохозяйственных животных. Перспективным направлением научных исследований является комплексное использование как пищевого, так и биотехнологического потенциала этих субпродуктов. В данной работе исследована возможность ферментативной модификации коллагенсодержащего рубца крупного рогатого скота раствором пепсина (лизатом). Раствор пепсина получен методом автолиза из ферментсодержащей камеры желудка крупного рогатого скота — цельного сычуга, тогда как обычно лизат получают из слизистой оболочки сычуга, процесс отделения которого является достаточно трудоемким. Исследованиями установлено, что лизат, приготовленный на основе цельных говяжьих сычугов, наряду с протеолитической, обладает и коллагеназной активностью. Для повышения эффективности выделения пепсиногена жесткую соединительную ткань сычуга измельчали и разрыхляли кислым раствором полифосфата, который обладает также бактериостатическим действием. На основании результатов эксперимента разработана рациональная технология выделения пепсина из цельных сычугов без предварительного отделения слизистой оболочки. Также доказана возможность ферментативной модификации коллагенсодержащего говяжьего рубца полученным лизатом с улучшением функционально-технологических характеристик. Экспериментально установлены режимы и параметры процесса ферментативной модификации свойств ткани рубца.

Original scientific paper

PREPARATION OF THE ENZYME SOLUTION FROM THE WHOLE BOVINE ABOMASUM FOR MODIFICATION OF PROPERTIES OF THE COLLAGEN CONTAINING RUMEN

Bayana A. Bazhenova*, Andrey M. Danilov

East-Siberian State University of Technology and Management, Ulan-Ude, Russia

Key words: rumen, abomasum, pepsin, modification, index fragmentation, functional and technological indicators.

Abstract

At present, a significant experience in the effective processing of secondary raw material resources of the meat industry has been accumulated. However, a proportion of their use for food purposes remains to be low. First of all, this concerns processing of the multi-chambered stomach of farm animals. A prospective direction of scientific research is the complex use both of food and biotechnological potential of these by-products. In this work, a possibility of the enzymatic modification of the collagen-containing bovine rumen with the pepsin solution (lysate) was studied. The pepsin solution was obtained by the autolysis method from the enzyme containing chamber of the cattle stomach — the whole abomasum; whereas, usually the lysate is obtained from the abomasal mucosa, which separation is quite a labor consuming process. The investigations established that the lysate prepared on the basis of the whole bovine abomasa had the proteolytic activity along with the collagenase one. To increase the effectiveness of pepsinogen extraction, the tough connective tissue of abomasa was minced and loosened with the acidic solution of polyphosphate, which also has the bacteriostatic activity. Based on the results of the experiment, the rational technology of pepsin extraction from the whole abomasa without preliminary separation of the mucosa was developed. In addition, a possibility of the enzymatic modification of the collagen containing bovine rumen using the obtained lysate with improvement of the functional and technological characteristics was proved. The regimes and parameters of the process of the enzymatic modification of the rumen tissue properties were experimentally established.

ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ: Баженова Б.А., Данилов А.М. Получение ферментного раствора из говяжьего цельного сычуга для модификации свойств коллагенсодержащего рубца. Теория и практика переработки мяса. 2017;2(4):62-75. DOI:10.21323/2414-438X-2017-2-4-62-75

FOR CITATION: Bayana A. Bazhenova, Andrey M. Danilov. Preparation of the enzyme solution from the whole bovine abomasum for modification of properties of the collagen containing rumen. Theory and practice of meat processing. 2017;2(4):62-75. (In Russ.) DOI:10.21323/2414-438X-2017-2-4-62-75

Введение

Одним из интенсивно развивающихся и перспективных направлений мясоперерабатывающей отрасли промышленности является разработка новых рецептур и технологий с использованием вторичного мясного сырья, содержащего достаточное количество белков, жиров, витаминов и микроэлементов. Вовлечение в производство вторичного сырья мясной промышленности способствует повышению эффективности использования белоксодержащего сырья, расширению ассортимента продуктов питания и решению экологических задач.

В последние годы особое внимание уделяют использованию субпродуктов на пищевые цели. Это связано, прежде всего, с достаточно высоким выходом вторичного белоксодержащего сырья по отношению к живой массе скота. Например, рубец имеет выход 1,7–2,5%, это составляет примерно 6–8 кг от одного животного. Следует также отметить, что в СССР на мясокомбинатах стабильно работали убойные цеха. Субпродукты направляли на изготовление пищевой и технической продукции, корма, использовали как эндокринно-ферментное сырье. Сегодня эти производства практически отсутствуют на мясоперерабатывающих предприятиях. Кроме того, переработка субпродуктов процесс трудоемкий, требует значительных ресурсных затрат. Эти вопросы невозможно решить на мелких предприятиях и убойных пунктах.

Научные исследования в этой области посвящены максимальному использованию как пищевого, так и биотехнологического потенциала субпродуктов. Исследователи предлагают такие направления использования коллагенсодержащего сырья, как получение белково-жировых эмульсий [1, 2, 3], желатина [4], препаратов для зоотехнии [5], включение модифицированных субпродуктов в рецептуру мясных изделий [6, 7, 8].

Некоторые субпродукты, такие как желудок сельскохозяйственных животных, эндокринные органы и другие, обладают биотехнологическим потенциалом. Желудок жвачных животных представляет собой две пищеварительные полости, которые существенно различаются друг от друга по строению и функциям: фундальную и пилорическую. Примечательно, что пепсин пилорического сока переваривает соединительнотканые белки [9].

Отдельной камерой желудка крупного рогатого скота является сычуг, слизистая оболочка которого, являющаяся ценным эндокринно-ферментным сырьем для получения фермента пепсина, широко используется в сыроделии и практической медицине для создания препаратов, стабилизирующих процессы пищеварения. Анализ имеющихся в литературе исследований в этом направлении показал возможность использования известного тендеризирующего эффекта протеолитических ферментов, имеющихся в слизистой оболочке сычуга крупного рогатого скота.

Однако сложным технологическим процессом является отделение слизистой оболочки от ткани сычуга. Поэтому в данной работе рассмотрена возможность выделения и активизации пепсиногена из цельных сычугов и исследование его тендеризирующего действия на коллагенсодержащий рубец, который имеет наибольший выход 1,7–2,5%. Преобладающим функциональным составным компонентом которого является соединительная ткань, состоящая из коллагена и эластина, с включениями жировой и мышечной тканей. Гладкая мышечная ткань рубца состоит из внутреннего и наружного слоев. К гладкой мышечной ткани рубца примешиваются и поперечно-полосатые мышечные волокна [1].

Коллагеновые и эластиновые волокна рубца придают ему высокую прочность, что требует применения способов его тендеризации для дальнейшего использования в рецептуре мясопродуктов. Существуют механические, физические, химические и биотехнологические способы тендеризации коллагенсодержащего сырья. Наиболее эффективным из перечисленных методов является биотехнологический, однако применение готовых ферментных препаратов в мясной промышленности ограничено, что объясняется дороговизной препаратов, трудностью подбора ферментов, воздействующих на белки и структурные элементы мышечной и соединительной тканей мяса в желаемом направлении.

Воздействовать на белки коллагенсодержащего сырья могут протеазы и коллагеназы. Известно, что коллагеназы не обладают строгой субстратной специфичностью. Так, коллагеназа микробного происхождения, синтезируемая *Clostridium histolyticum*, обладает широкой специфичностью и может расщеплять полипептидную цепь по более чем 200 участкам [10].

Тканевые коллагеназы проявляют более узкую специфичность. Например, коллагеназа головастика расщепляет тропоколлаген в одном лишь месте, причем сразу все три цепи. В результате при температуре 37 °С два фрагмента спонтанно разворачиваются и становятся доступными действию других протеолитических ферментов [10].

Пепсиноген пилорического сока сычуга после активизации может обладать и протеолитической, и коллагеназной активностью, переваривая соединительнотканые белки [9].

В связи с этим для решения задачи эффективной переработки субпродуктов на пищевые цели проведены исследования по улучшению технологических свойств говяжьего рубца, который, в основном, состоит из соединительной ткани и после тепловой обработки приобретает жесткую структуру.

Исходя из вышесказанного целью работы явилось исследование возможности получения ферментного раствора из говяжьего цельного сычуга для модификации функционально-технологических свойств коллагенсодержащего рубца.

Материалы и методы

Для проведения эксперимента заготовку сырья осуществляли на Петропавловском мясокомбинате (Джидинский район, Республика Бурятия). В соответствии с принятой технологией в процессе убоя животного извлекли внутренние органы, в том числе желудочно-кишечный тракт, который направили на специальный стол. На столе произвели отделение кишечника и разделение многокамерного желудка на отдельные части: книжку, сетку, рубец и сычуг. Следует отметить, что сычуг отделяли вместе с начальным отделом кишечника, который, также как и сычуг, в кислой среде выделяет пепсин, гидролизующий мышечные и соединительные белки. Разделенные камеры желудка освобождали от содержимого и жировой ткани, промывали водой температурой не выше 25 °С, замораживали в специальных емкостях при температуре минус 18 °С, хранили не более шести месяцев при температуре минус 12 °С. Замороженные субпродукты были направлены на проведение экспериментальных исследований в лабораторию кафедры «Технология мясных и консервированных продуктов» Восточно-Сибирского государственного университета технологий и управления (г. Улан-Удэ, РФ).

Для достижения поставленной цели на первом этапе были проведены эксперименты по приготовлению раствора пепсина (лизата) из цельного сычуга. За основу была принята технология выделения пепсина из слизистой оболочки, полученной путем трудоемкого процесса отделения ее от ткани сычуга [11].

В отличие от принятой технологии был использован цельный сычуг, скорректированы дозы воды и соляной кислоты. Количество добавляемой соляной кислоты, необходимой для активизации пепсина, регулировали с учетом величины кислотности реакционной смеси, которая должна составлять 2,0.

Таким образом, технология получения раствора пепсина заключалась в следующем: один килограмм чисто измельченной ткани сычуга выдерживали в реакционной смеси, состоящей из 2,5 л воды, 0,026 л концентрированной кислоты плотностью 1,19 г/см³ при температуре 30 °С. Затем смесь фильтровали через четырехслойный марлевый фильтр. В полученном растворе фермента пепсина (лизат), определяли протеолитическую и коллагеназную активность. В ходе эксперимента были уточнены продолжительность настаивания и пути повышения эффективности выделения пепсиногена.

Протеолитическую активность лизата изучали с использованием в качестве субстрата гемоглобина [12]. Коллагеназную активность раствора пепсина исследовали с использованием биуретового реактива и коллагена [13]. Опытную и контрольную пробы колориметрировали с зеленым светофильтром против второй контрольной на КФК-3-01 («Швабе», Россия). О коллагеназной активности лизата судили по величине экстинкции (Е). Для перевода ее в проценты рас-

творенного белка использовали стандартные данные, представленные в Табл. 1.

Табл. 1. Зависимость величины экстинкции от степени расщепления коллагена

Показатели	Значение				
Величина экстинкции, Е	0,174	0,116	0,088	0,061	0,029
Растворенный коллаген, %	54,5	36,0	27,8	23,7	11,6

На следующем этапе была исследована возможность тендеризации коллагенсодержащего рубца лизатом. Для этого рубец измельчали через волчок с диаметром решетки 3–5 мм подвергали ферментации путем введения 20 % полученного раствора лизата.

В ходе второго этапа эксперимента были определены органолептические показатели (в т.ч. степень разжевываемости) — по пятибальной шкале, массовые доли белка методом Кьельдаля, липидов — методом Сокслета, влаги — высушиванием, золы — озолением, функционально-технологические свойства — влагоудерживающая (ВУС) и жирудерживающая способности (ЖУС) — по методу ВНИИМП [14]. Также был изучен показатель «индекс фрагментации», который определяли путем фильтрации ферментированного образца, сбора и высушивания осадка и определения его массы [15].

Эксперименты проведены в трехкратной повторности.

Результаты и обсуждение

Для изучения возможности получения ферментного раствора из цельных сычугов были выработаны растворы пепсина из слизистой оболочки сычуга (контроль) и ткани сычуга (опыт) и исследованы их протеолитическая и коллагеназная активности, представленные на Рис. 1 и 2.

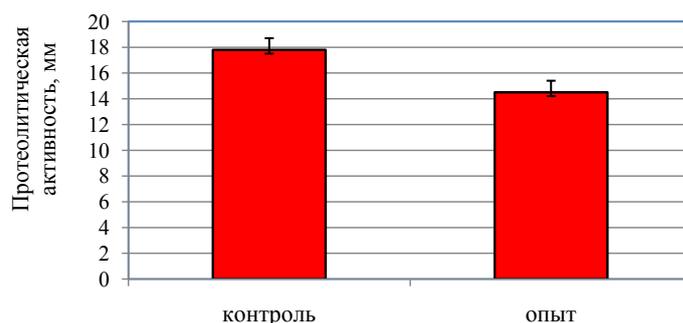


Рис. 1. Протеолитическая активность растворов пепсина, полученных из слизистой (контроль) и сычуга (опыт)

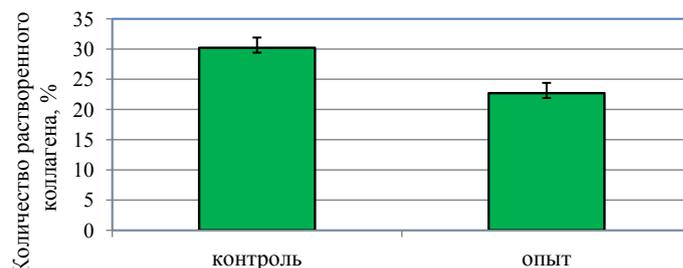


Рис. 2. Показатель коллагеназной активности растворов пепсина, полученных из слизистой (контроль) и сычуга (опыт)

Как показывают данные Рис. 1 и 2, протеолитическая активность опытного образца раствора пепсина статистически достоверно снижалась (на 18,5%) по сравнению с контролем, также снижалась коллагеназная активность (на 24,8%), что свидетельствует о меньшей степени ферментативного воздействия опытного раствора, вероятно, в связи с более низкой степенью извлечения пепсиногена из ткани сычуга.

С целью повышения эффективности выделения пепсиногена в качестве разрыхлителя слизистой и стенок сычуга решено было использовать триполифосфат натрия, который традиционно используют в количестве 0,5–1,5% к массе основного сырья при производстве мясных изделий.

В связи с тем, что лизат планируется использовать для обработки рубцовой ткани, которая затем будет включаться в рецептуру мясных фаршевых изделий, доза триполифосфата натрия для обработки сычугов рассчитана и выбрана 1,0, 1,5, 2,0%. Компонент предварительно смешивали с водой и вводили в раствор, предназначенный для обработки сычугов. В полученном растворе фермента была исследована протеолитическая активность при введении разных доз триполифосфата натрия. Данные представлены на Рис. 3.

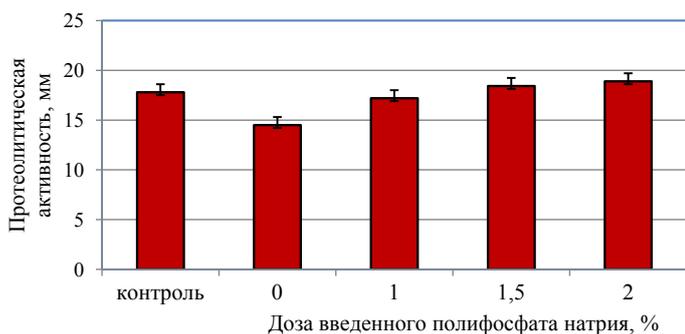


Рис. 3. Протеолитическая активность растворов пепсина, полученных с использованием разных доз триполифосфата натрия

Данные Рис. 3 свидетельствуют о том, что добавление полифосфата повышает протеолитическую активность полученного раствора. Так, введение 1% триполифосфата натрия способствует повышению протеолитической активности на 18,6%, однако ее уровень остается ниже контрольного значения. Отмечено, что введение 1,5 и 2,0% фосфатного препарата повышает протеолитическую активность, примерно до одинакового уровня 18,4–18,9 мм, что выше контрольного значения в среднем на 4–6%.

Далее исследовали коллагеназную активность, представленную на Рис. 4.

Полученные данные рисунка 4 свидетельствуют о том, что введение полифосфата способствует повышению и коллагеназной активности опытных образцов лизата. Введение триполифосфата натрия в количестве 1,5% повышает коллагеназную активность раствора пепсина до уровня 29,92%, что равно значению исследуемого показателя контрольного образца,

равному 30,20%. Дальнейшее увеличение дозы полифосфата до 2,0% не меняет значение коллагеназной активности раствора. Вероятно, добавление полифосфата натрия способствует разрушению связей между полипептидными цепочками, разволокнению структуры ткани сычуга, что облегчает процесс высвобождения молекул пепсиногена.

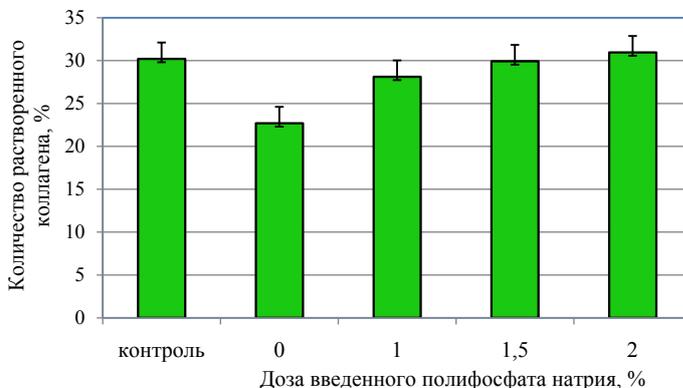


Рис. 4. Показатель коллагеназной активности растворов пепсина, полученных с использованием разных доз триполифосфата натрия

Исходя из полученных данных принята доза вводимого триполифосфата натрия — 1,5%, обеспечивающая высокую степень извлечения пепсиногена из ткани цельного сычуга.

Далее был проведен эксперимент по уточнению продолжительности процесса выдержки субстрата в реакционной смеси. Типовая технологическая инструкция по производству раствора пепсина из слизистой оболочки сычуга рекомендует трехкратное настаивание: сначала выдержка в течение 4 ч, затем осадок заново смешивается с кислым раствором и выдерживается в течение 2 ч, далее процесс повторяется и раствор выдерживается еще 2 ч. На Рис. 5 представлено значение протеолитической активности раствора пепсина, полученного из цельного сычуга путем трехкратного настаивания (4 ч, 2 ч, 2 ч) и путем непрерывного настаивания (8 ч).

Представленные данные выявили, что непрерывная выдержка субстрата не приводит к изменению активности общего количества лизата (разница входит в статистическую ошибку), зато снижает трудоемкость и длительность процесса. В связи с этим принята продолжительность настаивания измельченной ткани сычуга в кислом растворе — 8 часов.

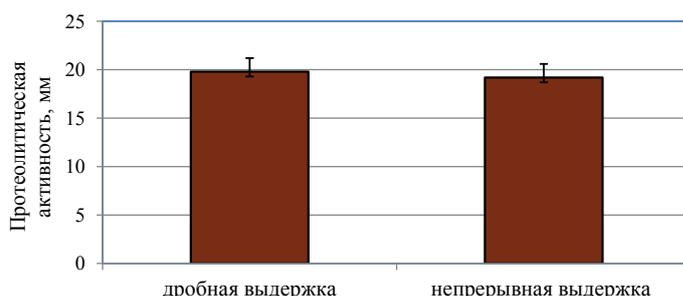


Рис. 5. Протеолитическая активность растворов пепсина, полученных дробной и непрерывной выдержкой сычуга в реакционной смеси

На основе экспериментов разработана технологическая схема получения лизата из цельных говяжьих сычугов, представленная на Рис. 6.

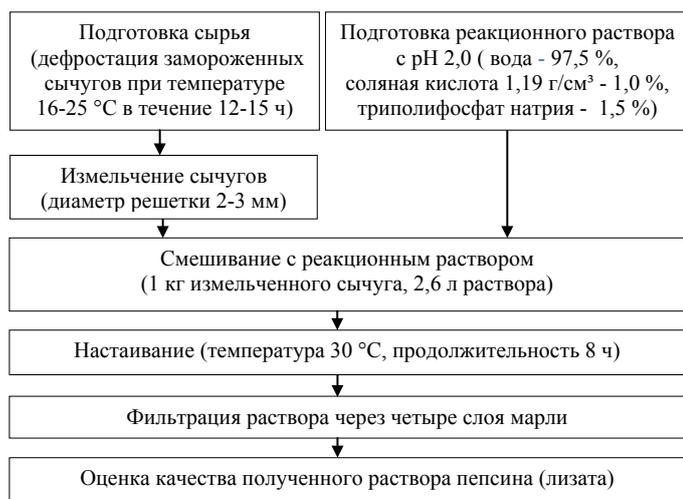


Рис. 6. Технологическая схема получения раствора пепсина из цельных говяжьих сычугов

Лизат, полученный в соответствии с предложенной технологической схемой был оценен по качественным показателям, результаты исследования которых представлены в Табл. 2.

Табл. 2. Качественные показатели раствора пепсина, полученного из цельных говяжьих сычугов

Показатели	Значение	
	контроль	опыт
Цвет	Светло-бежевый	Бежевый
Консистенция	Слизистая	Слизистая
Запах	Специфический	Специфический
Протеолитическая активность, мм	17,8	18,4
Коллагеназная активность (количество растворенного коллагена,%)	30,2	29,8

Данные, представленные в Табл. 2 показали, что раствор пепсина, выделенный из цельного сычуга, имеет органолептические показатели схожие с лизатом, полученным из слизистой оболочки и обладает высокой ферментативной активностью.

На следующем этапе были проведены исследования возможности тендеризации коллагенсодержащего говяжьего рубца полученным раствором лизата. Вначале были исследованы химический состав и технологические свойства говяжьего рубца, представленные в Табл. 3.

Данные, представленные в Табл. 3 свидетельствуют о том, что в состав рубца входят вода, белки, жиры и минеральные вещества. Отмечено, что по количеству белков рубец близок к мышечной ткани, однако имеет очень высокое содержание коллагена — почти 65 %, например, в мясе его содержание составляет лишь 15–20 %.

Табл. 3. Химический состав и свойства говяжьего рубца

Показатели	Единица измерения	Значение
Массовая доля влаги	%	75,2 ± 1,2
Массовая доля белка	%	15,0 ± 1,1
в т.ч. — коллагена	%	9,7 ± 0,6
— эластина	%	0,5 ± 0,1
Массовая доля жира	%	4,8 ± 0,6
Массовая доля золы	%	1,5 ± 0,1
Влагосвязывающая способность	%	55,6 ± 1,1
Усилие среза	*10 ² Па	6,7 ± 0,12
Выход	%	2,9 ± 0,2
Температура сваривания	°C	66,0 ± 2,1

Результаты исследования технологических свойств указывают на низкую влагосвязывающую способность рубца 55,6 % и высокое значение усилия среза, так как коллагеновые и эластиновые волокна имеют высокие прочностные характеристики, которые придают жесткость рубцовой ткани.

Температура сваривания является важным показателем коллагена, характеризующим его структурные изменения — в рубце она имеет высокое значение около 66 °C. Известно, что при этой температуре пучки волокон коллагена сильно съеживаются, изгибаются и становятся более эластичными, в связи с этим было решено изучить процесс модификации ткани рубца в сыром виде и после термообработки.

Для изучения процесса модификации свойств рубца было исследовано влияние полученного раствора пепсина на показатель «индекс фрагментации» рубца сырого и после отваривания (при температуре 75–80 °C в течение 15–20 мин).

Подготовленный рубец измельчали через волчок с диаметром решетки 3–5 мм и подвергали ферментации при температуре 35–37 °C в течение 12 часов. Продолжительность выдержки в ферментном растворе была выбрана для сравнительного анализа — 12 часов, исходя из того, что пепсин гидролизует белки и пептиды гораздо медленнее, чем другие протеиназы [13], в исследованиях, представленных ниже, проведен эксперимент по обоснованию этой продолжительности.

Результаты исследования влияния раствора пепсина на индекс фрагментации сырой и вареной рубцовой ткани представлены на Рис. 7.

Анализ данных Рис. 7 показывает, что ткань рубца после тепловой обработки больше подвергается действию ферментов по сравнению с сырым рубцом, так как значение индекса фрагментации на всем протяжении эксперимента остается ниже, что свидетельствует о большей степени разрушения ткани субстрата. Так, при добавлении 10 % лизата индекс фрагментации в опыте 2 ниже уже на 12 % по сравнению с опытом 1, при увеличении дозы ферментного раствора до

20–40 % значение исследуемого показателя понижается на 21–23 %. Видимо, предварительная тепловая обработка рубца способствует свариванию коллагена и денатурации соединительнотканых и мышечных белков. Механизм термомодификации заключается в том, что при тепловом движении нарушается тройная спираль основной структурной единицы коллагена — тропоколлагена и образуется разорванная структура, имеющая конфигурацию статического клубка [13]. То есть после тепловой обработки тропоколлаген утрачивает спирализованность структуры и пептидные связи становятся доступными молекулам пепсина.

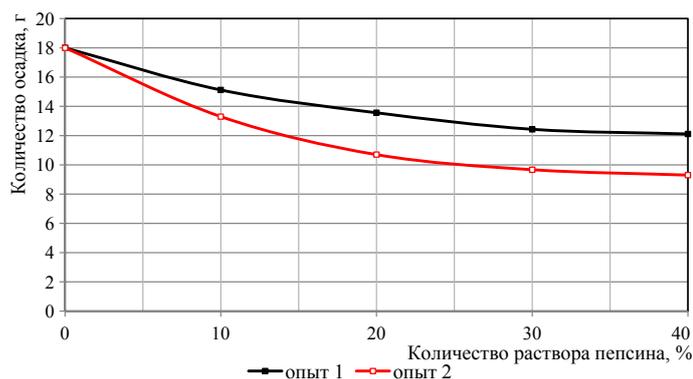


Рис. 7. Изменение индекса фрагментации сырой (опыт 1) и вареной (опыт 2) рубцовой ткани

Если рассматривать динамику индекса фрагментации в опыте 2 в зависимости от количества вводимого лизата, то можно отметить, что увеличение дозы вводимого лизата свыше 30 % не приводит к существенному изменению исследуемого показателя. В связи с этим оптимальной принята доза раствора пепсина для обработки вареного рубца — 30 %.

Далее провели исследование по обоснованию продолжительности выдержки вареного рубца в растворе пепсина, было изучено изменение индекса фрагментации вареного рубца при выдержке в ферментном растворе в течение 6, 8, 10, 12, 14, 16 часов. Данные представлены на Рис. 8.

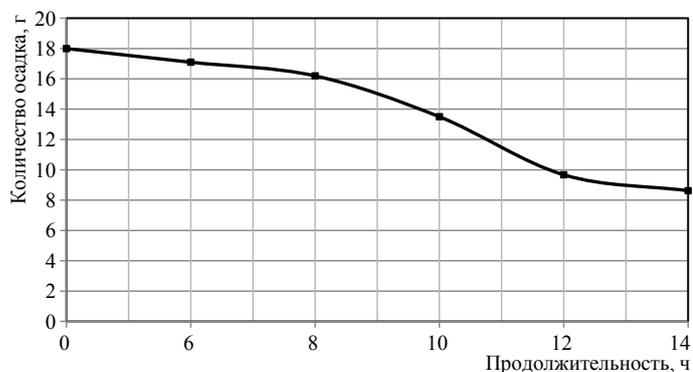


Рис. 8. Влияние продолжительности выдержки вареной рубцовой ткани в ферментном растворе на изменение индекса фрагментации

Как свидетельствуют данные, представленные на Рис. 8, только через 10 часов выдержки субстрата

в ферментном растворе наблюдается значительное снижение индекса ферментации на 25 %, через 12 часов — уже на 46,3 % далее значительного изменения значения исследуемого показателя не наблюдается. Таким образом, выбрана оптимальная продолжительность процесса ферментации — 12 часов. Хотелось бы отметить, что действие пепсина заключается в его способности разрушать водородные и дисульфидные связи между полипептидными цепями, что приводит к образованию «открытых» форм белковых молекул мясного сырья. В результате наблюдаются морфологические изменения мышечных, коллагеновых и эластиновых волокон и, как следствие, способствующие улучшению функционально-технологических свойств ткани (Рис. 9).

На Рис. 9 представлены результаты исследования таких функционально-технологических показателей, как водоудерживающая и жирудерживающая способности рубца после ферментирования (опыт) по сравнению с исходным измельченным рубцом без ферментации (контроль).

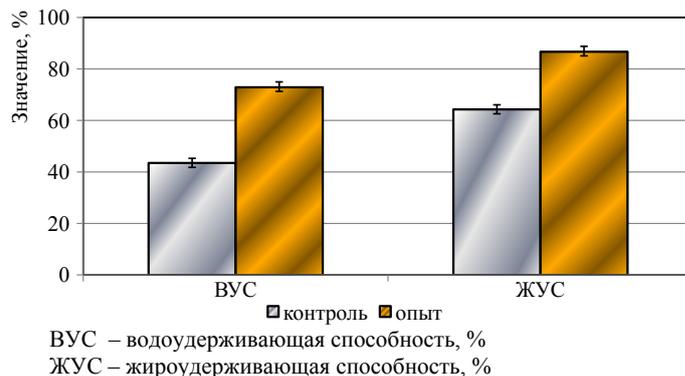


Рис. 9. Функционально-технологические показатели ферментированного рубца

Данные Рис. 9 показали, что после выдержки рубца в ферментном растворе наблюдается статистически достоверное улучшение функционально-технологических характеристик. Это подтверждает возможность модификации свойств ткани коллагенсодержащего рубца путем ее обработки лизатом из цельного говяжьего сычуга. Несомненно, что инициатором повышения функционально-технологических свойств рубца выступает изменение структуры коллагена, а также гладких и поперечнополосатых мышечных волокон, которое способствует появлению активных функциональных гидро- и липофильных групп.

На основании полученных результатов экспериментальных исследований разработана технологическая схема ферментации говяжьего рубца раствором пепсина, полученным из цельных сычугов (Рис. 10).

В соответствии с представленной технологической схемой после отбора рубцы подготавливают (обезжиривают, нарезают, промывают, шпарят и очищают от слизистой оболочки), затем варят, измельчают и подвергают ферментации при выдержке

субстрата: (ферментный раствор в соотношении 10:3 в течение 12 часов). Далее охлаждают, тонко измельчают и диспергируют до получения пасты, которую можно использовать в производстве измельченных мясных продуктов.

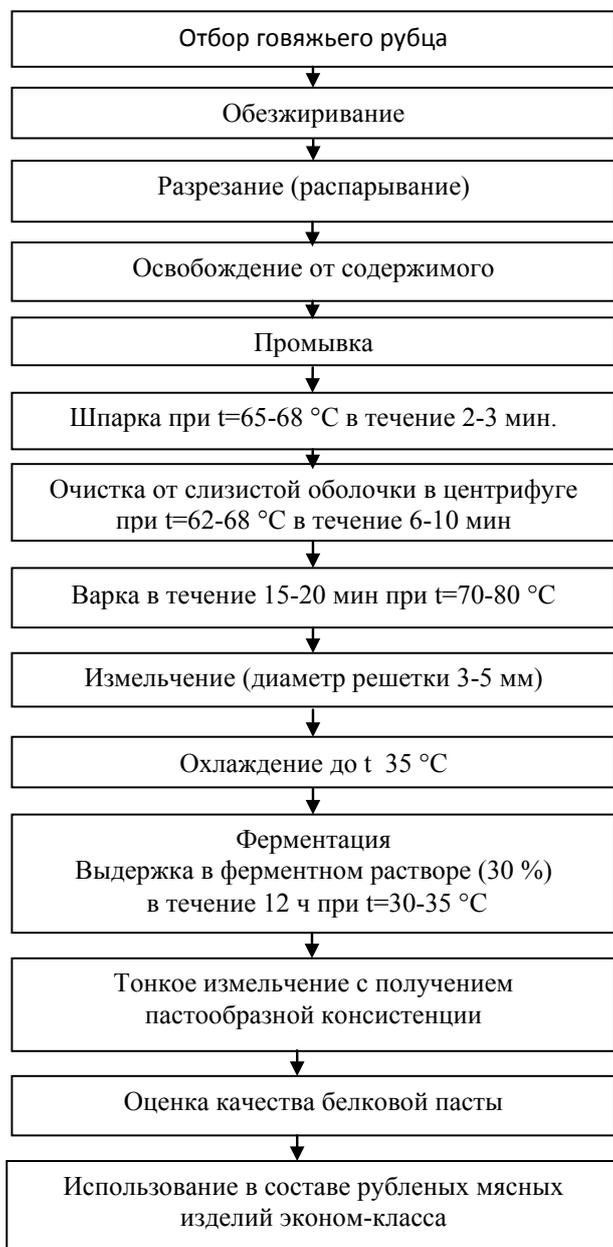


Рис. 10. Технологическая схема ферментации говяжьего рубца

Биотехнологический способ тендеризации коллагенсодержащих продуктов играет заметную роль среди предлагаемых способов размягчения жесткого сырья. Исследователи предлагают использовать протеолитические ферменты разного происхождения отдельно или в сочетании.

В работе [16] обоснована целесообразность применения протеолитических ферментов животного (коллагеназа из гепатопанкреаса камчатского краба)

и микробного (мегатерин Г10Х и протосубтилин Г10Х) происхождения для обработки низкосортного мясного сырья с высоким содержанием соединительнотканых белков.

Автором [17] показано, что при обработке говяжьими ферментным препаратом животного происхождения протепсин происходит набухание мышечных волокон и соединительной ткани, что приводит к повышению гидрофильности.

Установлено повышение гидрофильности и улучшение прочностных свойств мяса кур яйценоской породы после ферментной обработки коллагеназой и трипсином [18].

Выявлено, что применение транскляминазы при производстве мясных продуктов повышает гидрофильность мышечных белков из-за способности переносить активные группы от одного соединения к другому [19].

Изучено влияние пропионовокислых бактерий [20] и совместно бифидобактерий, пропионовокислых бактерий, а также пепсина и трипсина [21] на свойства мясного сырья, установлено улучшение структуры изучаемых тканей.

Недостатками биотехнологического способа обработки мышечной и соединительной тканей является дороговизна препаратов, а также избирательность действия ферментов. Предлагаемый нами способ тендеризации коллагенсодержащего сырья позволяет выделить ферментный раствор, имеющий высокие протеолитическую и коллагеназную активности, из побочного животного сырья, который можно использовать для размягчения малоценного белоксодержащего сырья с целью рационального его использования.

Выводы

На основании проведенных исследований предложен способ получения раствора пепсина из цельного говяжьего сычуга путем настаивания измельченного сычуга в реакционной смеси, содержащей соляную кислоту, триполифосфат натрия и воду с последующим фильтрованием. Воздействуя полученным ферментным раствором на термически обработанную ткань коллагенсодержащего рубца, выявлена возможность улучшения ее функционально-технологических характеристик. Паста на основе модифицированного рубца может быть использована в рецептуре рубленых и эмульгированных мясных продуктов, субпродуктовых изделий (паштетов, ливерных колбас) как источник пищевых волокон, а также перспективным направлением дальнейших исследований может служить изучение способов регулирования глубины протеолиза и коллагенолиза с целью получения биологически активных пептидов.

Introduction

One of the most intensively developing and promising directions of the meat processing branch of the industry is the development of new formulations and technologies using secondary meat raw materials, which contain sufficient amounts of proteins, fats, vitamins and microelements. Inclusion of the secondary raw materials of the meat industry in production facilitates an increase in the effectiveness of the use of protein containing raw materials, extension of a food assortment and achievement of ecological goals.

Recently, a special attention has been paid to the use of by-products for food purposes. It is necessary to note the high rumen yield (1.7–2.5%), which is indicative of its possible weight of 6–8 kg per animal. Secondly, it is necessary to note, that, previously, slaughter floors stably operated in meat processing enterprises, and by-products were sent for production of food and technical products, feeds and also used as endocrine-enzyme raw materials. Today, these productions are practically absent in meat processing enterprises. Moreover, processing of by-products is a labor consuming process, which requires significant resource expenditure. These questions cannot be solved in small enterprises and slaughter stations.

Scientific investigations in this field are devoted to the maximum use both of the food and biotechnological potential of by-products. Researchers propose several directions for the use of the collagen containing raw materials such as production of protein-fat emulsions [1, 2, 3], gelatin [4], preparations for zootechnics [5], incorporation of modified by-products into meat product formulations [6, 7, 8].

By-products such as the stomach of farm animals, endocrine organs and others have the biotechnological potential. The stomach of ruminants has two digesting cavities (fundal and pyloric), which are significantly different from each other by the structure and function. It is remarkable that pepsin of the pyloric juice digests connective tissue proteins [9].

An individual chamber of the bovine stomach is abomasum, which mucosa is a valuable endocrine-enzyme raw material for production of the enzyme pepsin and is widely used in cheese production and practical medicine to create preparations stabilizing digestive processes. Analysis of the available in the literature studies in this field shows a possibility to use the well-known tenderizing effect of the proteolytic enzymes existing in the bovine abomasal mucosa.

However, separation of the mucosa from the abomasum tissue per se is a difficult technological process. Therefore, this work examines the possibility to extract and activate pepsinogen from the whole abomasum and investigate their tenderizing action on the collagen containing rumen, which has the highest yield (for example, 1.7–2.5% for cattle). The prevalent rumen functional component is the connective tissue, which consists of collagen and elastin with inclusion of the adipose and muscular tissues. The smooth-muscle tissue consists of the internal and external

layers. In addition to the smooth-muscle tissue, there are also the striated muscle fibers in the rumen [1].

The collagen and elastin fibers of the rumen give it high strength, which requires the application of methods for its tenderization for the further use in meat product formulations. There are mechanical, physical, chemical and biotechnological methods for tenderization of collagen containing raw materials. The most effective among the abovementioned methods are biotechnological; however, the use of the ready enzyme preparations in the meat industry is limited, which can be explained by expensiveness of the preparations, difficulties in selection of enzymes that affect proteins and structural elements of the meat muscular and connective tissues in a desired direction.

Proteins of the collagen containing raw materials can be affected by proteases and collagenases. It is known that collagenases do not have strong substrate specificity. For example, microbial collagenase synthesized by *Clostridium histolyticum* has broad specificity and can cleave the polypeptide chain at more than 200 sites [10].

Tissue collagenases have narrower specificity. For example, tadpole collagenase cleaves tropocollagen at a unique site across all three chains. As a result, two fragments spontaneously unfold at a temperature of 37°C and become available to the action of other proteolytic enzymes [10].

After activation, pepsinogen of the pyloric juice of the abomasum can have both the proteolytic and collagenase activity digesting connective tissue proteins [9].

In this connection, to solve the task of effective processing of by-products for food purposes, the investigations were carried out regarding an improvement in the technological properties of the bovine rumen, which mainly consists of the connective tissue and acquires the tough structure after thermal treatment.

With regard to the above, the aim of this work was investigation of a possibility to produce an enzyme solution from the whole bovine abomasum for modification of the functional and technological properties of the collagen containing rumen.

Materials and methods

To carry out the experiment, the raw materials were obtained in the Petropavlovsk meat processing plant (Dzhindinsky district, The Republic of Buryatia).

According to the conventional technology, the internal organs (including the gastrointestinal tract) were removed in the process of animal slaughter and directed to the special table. On the table, the gut was separated and the multi-chambered stomach was divided into the individual parts: omasum, reticulum, rumen and abomasum. It is necessary to note, that the abomasum was separated with the first part of the gut, which similar to the abomasum, in the acidic environment, secretes pepsin, which hydrolyses muscular and connective tissue proteins. The separated stomach chambers were cleaned from their contents and adipose tissue, washed using water with a temperature of

not more than 25 °C, frozen in special containers at a temperature of –18 °C, and stored at a temperature of –12 °C for not more than six months. Frozen by-products were sent for experimental analysis to the laboratory of the Department of Meat and Canned Food Technology of the East-Siberian State University of Technology and Management, Ulan-Ude, Russia.

To achieve the set goal, at the first stage, the experiments on preparation of the pepsin solution (lysate) from the whole abomasum were carried out. The technology of extraction of pepsin from mucosa obtained by the labor consuming process of its separation from the abomasum per se [11] was taken as a basis.

In contrast to the conventional technology, the whole abomasum was used; the doses of water and hydrochloric

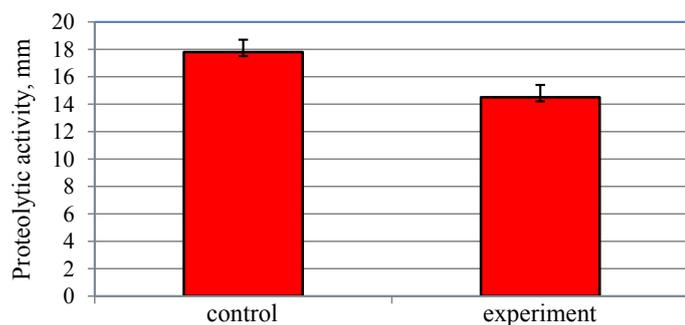


Fig. 1. The proteolytic activity of the pepsin solutions, obtained from the mucosa (control) and abomasum per se (experiment)

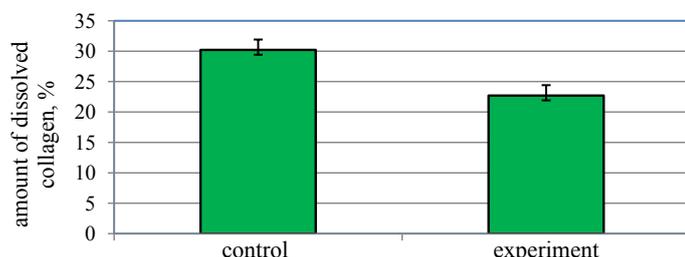


Fig. 2. The indicator of the collagenase activity of the pepsin solution obtained from mucosa (control) and abomasum per se (experiment)

acid were adjusted. An amount of added hydrochloric acid necessary for pepsin activation was regulated according to the acid value of the reaction mixture, which is to be 2.0.

Therefore, the technology of production of the pepsin solution was as follows. One kilogram of the pure abomasum was incubated in the reaction mixture, which consisted of 2.5 l of water, 0.026 l of concentrated acid with a density of 1.19 g/cm³ at a temperature of 30 °C. Then, the mixture was filtered through the four-layer gauze filter. The proteolytic and collagenase activity was determined in the obtained solution of pepsine (lysate). In the course of the experiment, duration of infusion and the ways of increasing the effectiveness of pepsinogen secretion were specified.

The proteolytic activity of the lysate was studied using hemoglobin as a substrate [12]. The collagenase activity of the pepsin solution was determined by the biuret reagent and collagen [13]. The colors of experimental and control samples were measured using the green light filter against the second control sample on KFK-3-01 (Shvabe, Russia).

The collagenase activity of lysate was judged by the extinction value (E). To transform it into the percentages of solubilized protein, the standard data presented in Table 1 were used.

Table 1. Dependence of the extinction value on the collagen cleavage degree

Indicators	Value				
	Extinction value, E	0.174	0.116	0.088	0.061
Solubilized collagen, %	54.5	36.0	27.8	23.7	11.6

At the following stage, the possibility to use tenderization of the collagen containing rumen with the lysate was studied. To this end, the rumen was preliminarily minced through a grinder with a plate hole diameter of 3–5 mm and subjected to fermentation by introduction of 20 % of the obtained lysate solution.

During the second stage of the experiment, the organoleptic indicators were determined, including the degree of chewiness using the five-point scale, protein mass fraction by the Kjeldahl method, lipids by the Soxhlet method, moisture by drying, ash by combustion, functional and technological properties (moisture holding capacity (MHC) and fat holding capacity (FHC)) by the method of VNIIMP [14]. The fragmentation index was also studied, which was determined by filtration of the fermented sample, collection and drying of the sediment and measurement of its mass [15].

The experiments were carried out with three replications.

Results and discussion

To study the possibility of obtaining the enzyme solution from the whole abomasum, the pepsin solutions were made from the abomasal mucosa (control) and the abomasum per se (experiment); their proteolytic and collagenase activities were investigated (Fig. 1 and 2).

As the data in Fig 1 and 2 show, the proteolytic activity of the experimental sample of the pepsin solution statistically significantly decreased (by 18.5%) compared to the control; the collagenase activity was also reduced (by 24.8%), which points to the less degree of the enzymatic activity of the experimental sample, possibly, due to the lower degree of pepsinogen extraction from the abomasum tissue.

In order to increase the effectiveness of pepsinogen extraction, it was decided to use sodium tripolyphosphate, which is conventionally used in an amount of 0.5–1.5 % to the main raw material weight in meat product manufacture, as an agent for loosening of the abomasal mucosa and wells.

In connection with the fact that the lysate is planned to be used for treatment of the rumen tissue, which will be then included into formulations of minced meat products, the dose of sodium tripolyphosphate for abomasum processing was calculated and chosen at levels of 1.0, 1.5, 2.0 %. The component was preliminary mixed with water and added to the solution intended for abomasum processing. In the ob-

tained enzyme solution, the proteolytic activity upon introduction of different doses of sodium tripolyphosphate was investigated. The data are presented in Fig. 3.

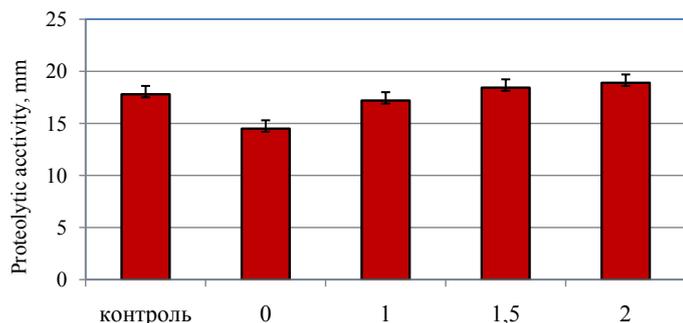


Fig. 3. The proteolytic activity of the pepsin solutions obtained with the use of different doses of sodium tripolyphosphate

The data in Fig.3 are indicative of the fact that an addition of tripolyphosphate increases the proteolytic activity of the obtained solution. For example, an addition of 1% of sodium tripolyphosphate facilitates an increase in the proteolytic activity by 18.6%; however, its level remains to be lower than the control value. It was observed that an addition of 1.5 and 2.0% of phosphate preparation increases the proteolytic activity approximately to the same level of 18.4–18.9 mm, which is higher than the control value by 4–6% on average. Then, the collagenase activity was studied, which is presented in Fig. 4.

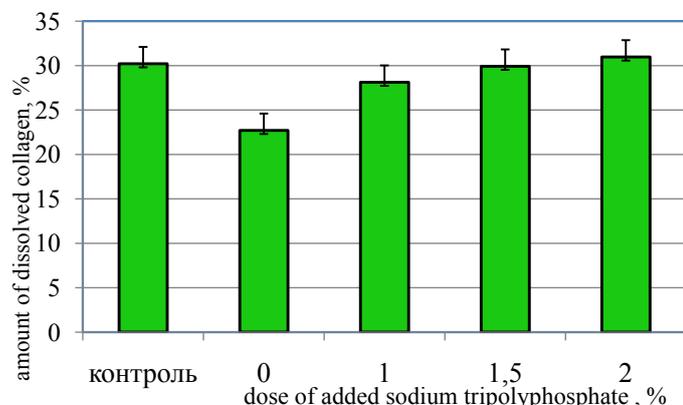


Fig. 4. The indicator of the collagenase activity of pepsin solutions obtained with the use of different doses of sodium tripolyphosphate

The obtained data in Fig. 4 show that an addition of polyphosphate also facilitates an increase in the collagenase activity of the experimental lysate samples. An addition of sodium tripolyphosphate in an amount of 1.5% increases the collagenase activity of the pepsin solution up to the level of 29.92%, which is equivalent to the value of the analyzed indicator in the control sample equal to 30.20%. The following increase in the dose of sodium tripolyphosphate up to 2.0% does not change the value of the collagen activity of the solution. It appears that an addition of sodium tripolyphosphate facilitates a breakage of the bonds between the polypeptide chains, separation of fibers in the structure of the abomasum, which assist the process of pepsinogen molecule release.

Based on the obtained data, the accepted dose of added sodium tripolyphosphate was 1.5%, which ensured a high degree of pepsinogen extraction from the whole abomasum tissue.

After that, the experiment on specification of the process duration for the substrate incubation in the reaction mixture was carried out. The typical technological instruction on production of the pepsin solution from the abomasal mucosa recommends triple infusion: first, incubation for 4 hours; then, the sediment is mixed again with the acidic solution and incubated for 2 hours; after that, the process is repeated and the solution is incubated for additional 2 hours. Fig 5 presents the value of the proteolytic activity of the pepsin solution obtained from the whole abomasum by triple infusion (4 h, 2 h, 2 h) and by continuous infusion (8 h).

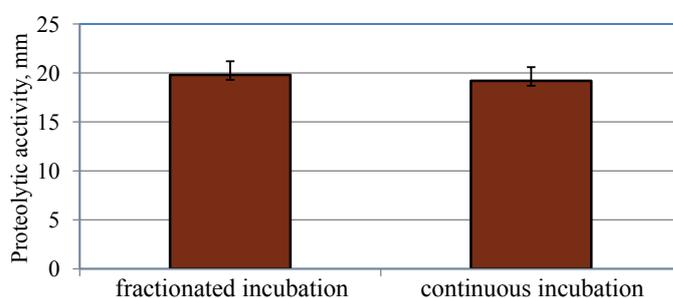


Fig. 5. The proteolytic activity of the pepsin solutions obtained by fractionated incubation and continuous incubation of the abomasum in the reaction mixture

The presented data revealed that continuous incubation of a substrate did not lead to changes in the activity of the total lysate quality (the difference was within the statistical error), but it decreased the labor intensity and duration of the process. In this connection, the duration of infusion of the mixed abomasum tissue in the acidic solution was 8 hours.

Based on the experiments, the technological scheme of lysate production from the whole bovine abomasa was developed (Fig. 6).

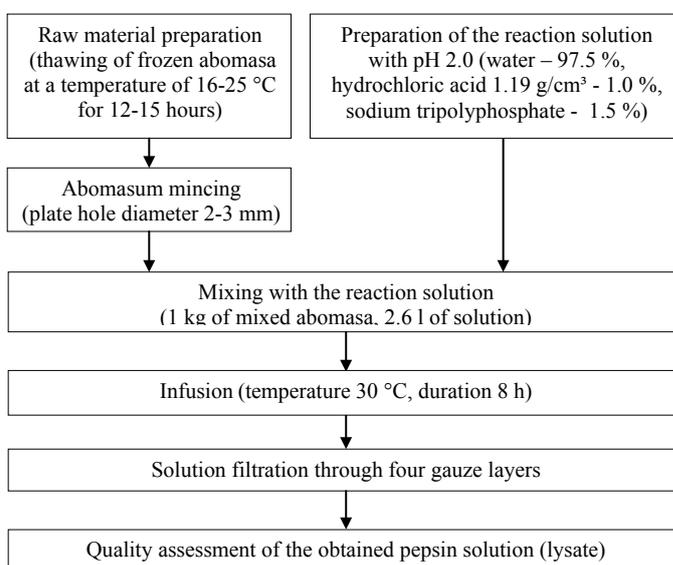


Fig. 6. Technological scheme of pepsin solution preparation from the whole bovine abomasa

Lysate prepared according to the proposed technological scheme was assessed by quality indicators; the results of their analysis are presented in Table 2.

Table 2. Quality indicators of the pepsin solution obtained from the whole abomasa

Indicators	Value	
	control	experiment
Color	light-beige	beige
Consistency	slimy	slimy
Odor	specific	specific
Proteolytic activity, mm	17.8	18.4
Collagenase activity (amount of dissolved collagen,%)	30.2	29.8

The data presented in Table 2 showed that the pepsin solution obtained from the whole abomasum had the organoleptic indicators similar to those of the lysate obtained from the mucosa and also had the high enzymatic activity.

At the next stage, a study on the possibility to tenderize the collagen containing bovine rumen with the obtained lysate solution was carried out. At first, the chemical composition and technological properties of the bovine rumen were investigated. The results are presented in Table 3.

Table 3. Chemical composition and properties of the bovine rumen

Indicators	Units of measurement	Value
Moisture mass fraction	%	75.2 ± 1.2
Protein mass fraction	%	15.0 ± 1.1
including — collagen	%	9.7 ± 0.6
— elastin	%	0.5 ± 0.1
Fat mass fraction	%	4.8 ± 0.6
Ash mass fraction	%	1.5 ± 0.1
Moisture binding capacity	%	55.6 ± 1.1
Shear force	*10 ² Pa	6.7 ± 0.12
Yield	%	2.9 ± 0.2
Cooking temperature	°C	66.0 ± 2.1

The data presented in Table 3 demonstrate that the rumen contains water, proteins, fats and minerals. It was noticed that by the protein amount, the rumen is closed to the muscle tissue; however, it has very high collagen content (almost 65%), while in meat its content is only 15–20%.

The results of the investigation of the technological properties point to the low moisture binding capacity of the rumen (55.6%) and the high value of shear force as the collagen and elastin fibers have high strength characteristics, which impart toughness to the rumen tissue.

The cooking temperature is an important indicator of collagen, which characterizes its structural changes — in the rumen it has a value of about 66°C. It is known that at that temperature the collagen fiber bundles are highly shrank, bent and become more elastic. In this connection

it was decided to study the process of rumen tissue modification in the raw form and after thermal treatment.

To study the process of rumen properties modification, an effect of the obtained pepsin solution on the indicator «fragmentation index» of the raw rumen and after its cooking (at a temperature of 75–80°C for 15–20 min) was investigated.

The pre-prepared rumen was minced through a grinder with a plate hole diameter of 3–5 mm and subjected to fermentation at a temperature of 35–37°C for 12 hours. The duration of incubation in the enzyme solution was chosen for the comparative analysis at a level of 12 hours based on the consideration that pepsin hydrolyses proteins and peptides significantly slower than other proteinases [13]; in the study presented below, the experiment on substantiation of this duration was carried out.

The results of the investigation of a protein solution effect on the fragmentation index of the raw and cooked rumen tissue are presented in Fig. 7.

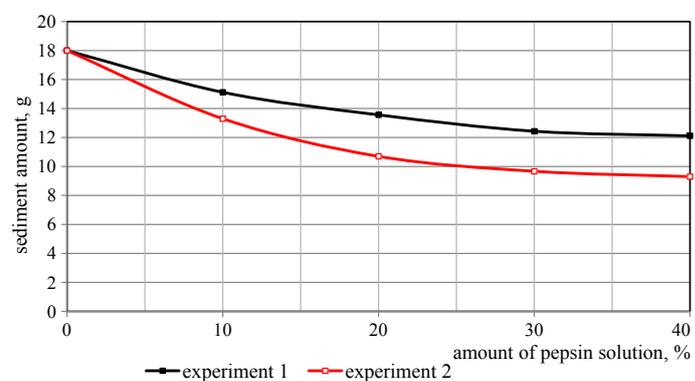


Fig. 7. Changes in the fragmentation index of the raw (experiment 1) and cooked (experiment 2) rumen tissue

Analysis of the data in Fig. 7 shows that the rumen tissue after thermal treatment is more subjected to the enzyme impact compared to the raw rumen as the value of the fragmentation index throughout the experiment remained to be lower, which is indicative of the higher degree of the substrate tissue destruction. For example, when adding 10% of the lysate, the fragmentation index in the experiment 2 was 12% lower compared to experiment 1; when increasing the dose of the enzyme solution up to 20–40%, the value of the analyzed indicator decreased by 21–23%. It appears that preliminarily thermal treatment of the rumen facilitates collagen cooking and denaturation of connective tissue and muscle proteins. The mechanism of thermal modification consists in the fact that upon thermal motion the triple helix of the main collagen structural unit, tropocollagen, is destroyed and a broken structure of the static globular shape is formed [13]. That is, after thermal treatment, tropocollagen loses the helical shape of the structure and the peptide bonds become available to the pepsin molecules.

If we consider the dynamics of the fragmentation index in the experiment 2 depending on an amount of the added lysate, we can notice that an increase in the dose of the

added lysate over 30 % does not lead to a significant change in the indicator under investigation. In this connection, a dose of the pepsin solution for the cooked rumen processing was taken at a level of 30 %.

Then, a study on substantiation of the duration of cooked rumen incubation in the pepsin solution was carried out; changes in the fragmentation index of the cooked rumen were analyzed when incubating in the enzyme solution for 6, 8, 10, 12, 14, 16 hours. The data are presented in Fig. 8.

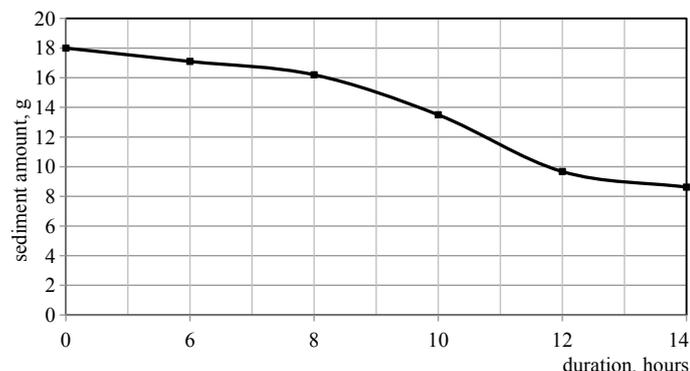
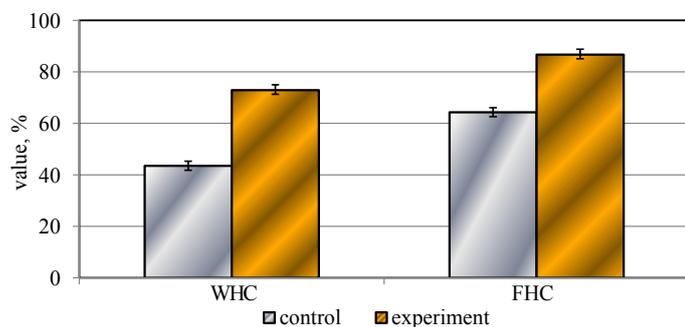


Fig. 8. An effect of duration of cooked rumen tissue incubation in the enzyme solution on changes in the fragmentation index

As the data presented in Fig. 8 demonstrate, only after 10 hours of incubation of the substrate in the enzyme preparation, a significant decrease (by 25 %) in the fragmentation index is evident; after 12 hours it decreases by 46,3 %, then, significant changes in the analyzed indicator is not observed. Therefore, an optimal duration (12 hours) of the fermentation process was chosen. It is necessary to note that an effect of pepsin consists in its ability to break the hydrogen and disulfide bonds between polypeptide chains, which leads to the development of «open» forms of protein molecules of meat raw materials. As a result, morphological changes in muscle, collagen and elastin fibers are observed, which, as a consequence, facilitate an improvement in the functional and technological properties of the tissue (Fig 9).



WHC – water holding capacity, %

FHC – fat holding capacity, %

Fig. 9. The functional and technological indicators of the fermented rumen

Fig. 9 presents the results of the investigation of the functional and technological indicators such as water holding capacity (WHC) and fat holding capacity (FHC) of the rumen after fermentation (experiment) compared to the initial minced rumen without fermentation (control).

The data in Fig. 9 demonstrate that after rumen incubation in the enzyme solution, the statistically significant improvement in the functional and technological characteristics is observed. This confirms the possibility to modify the properties of the tissue of the collagen containing rumen by its treatment with the lysate from the whole bovine abomasum. Undoubtedly, the initiator of an increase in the functional and technological properties of the rumen is the change in the collagen structure as well as smooth and striated muscle fibers, which facilitate appearance of the active functional hydro- and lipophilic groups.

Based on the obtained results of the experimental investigations, a technological scheme of bovine rumen fermentation with the pepsin solution obtained from the whole abomasa was developed (Fig. 10).

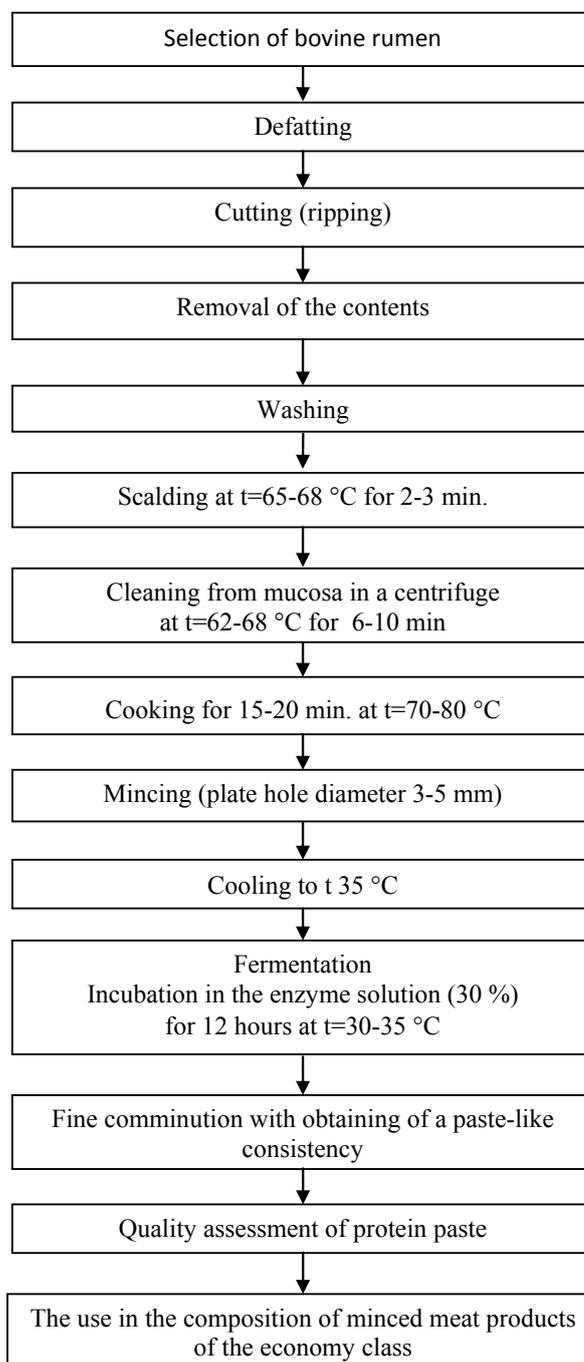


Fig. 10. The technological scheme of bovine rumen fermentation

According to the presented technological scheme, after selection, the rumens are prepared (defatted, cut, washed, scalded and cleaned from mucosa), then cooked, minced and fermented upon incubation at a substrate: enzyme solution ratio of 10:3 for 12 hours. Then, they are cooled, finely comminuted and dispersed until obtaining a paste, which can be used in production of minced meat products.

The biotechnological method of tenderization of collagen containing products plays a prominent role among the proposed methods of tenderization of tough raw materials. Researchers propose using the proteolytic enzymes of different origin individually or in combination.

The work [16] substantiates the expediency of using proteolytic enzymes of animal (collagenase from Kamchatka crab hepatopancreas) and microbial (megaterin G10X and protosubtilin G10X) origin to process low grade meat raw material with the high content of connective tissue proteins.

The author [17] shows that when treating beef with the enzyme preparation of animal origin, pepsin, swelling of muscle fibers and connective tissue occurs, which lead to an increase in hydrophilicity.

An increase in hydrophilicity and improvement of the strength properties of meat from of egg-laying hens after enzyme treatment with collagenase and trypsin was established [18].

It was revealed that the use of transglutaminase upon production of meat products increases hydrophilicity of muscle proteins due to the ability to transfer the active groups from one compound to another [19].

An effect of propionic bacteria [20] and bifidobacteria in combination with propionic bacteria, as well as pepsin and trypsin [21] on meat raw material properties was studied; an improvement in the structure of the studied tissues was established.

Disadvantages of the biotechnological method for treatment of the muscle tissue and connective tissue is expensiveness of preparations as well as selectivity of the enzyme activity. The proposed method for processing of collagen containing raw materials allows obtaining the enzyme solution, which has the high proteolytic and collagenase activities, from secondary animal raw materials with the aim of its rational use.

Conclusions

Based on the performed investigations, we propose the method for preparation of the pepsin solution from the whole bovine abomasum by infusion of the minced abomasum in the reaction solution that contains hydrochloric acid, sodium tripolyphosphate and water with the following filtration. When treating the thermally processed tissue of the collagen containing rumen with the obtained enzyme solution, the possibility to improve its functional and technological characteristics was revealed. The paste on the basis of the modified rumen can be used in formulations of minced and emulsified meat products and items from by-products (pates, liver sausages) as a source of dietary fibers. A study on the methods for the regulation of the proteolysis and collagenolysis depth with the aim of obtaining biologically active peptides can be a promising direction for further investigations.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Антипова, Л. В. (2012). Основы рационального использования вторичного коллагенсодержащего сырья мясной промышленности: монография. Воронеж, ВГТА. — 248 с.
2. Патшина, М.В. (2013). Разработка технологии вареных мясных продуктов с использованием коллагенового полуфабриката из свиной шкурки. Автореф. дис. канд. техн. наук. Кемерово, КемТИПП. — 22 с.
3. Титов, Е.И., Апраксина, С.К., Митасева, Л.Ф., Новикова, В.Н. (2006). Рациональный способ переработки коллагенсодержащих субпродуктов. *Мясная индустрия*, 9, 28–30.
4. Антипова, Л.В., До Ле Хью Нам. (2011). Исследование возможности применения протеолитических ферментных препаратов в технологии желатина из новых видов сырьевых источников. *Вестник Воронежского государственного университета инженерных технологий*, 3, 12–17.
5. Чернуха, И.М., Богатырев, А.Н., Дыдыкин, А.С., Асланова, М.А., Федулова, Л.В. (2014). Влияние полипептидов, выделенных из сычуга крупного рогатого скота, на регенераторные процессы желудка крыс. *Вопросы питания*, 83 (5), 26–32.
6. Тарасова, И.В., Ребезов, М.Б., Переходова, Е.А., Косолапова, А.С., Зинина, О.В. (2014). Оценка показателей качества полуфабрикатов мясных рубленых с биомодифицированным сырьем. *Молодой ученый*, 8, 279–281.
7. Баженова, Б.А. (2014). Научное обоснование и разработка инновационных технологий продуктов из мяса яков и лошадей Бурятского экотипа. Автореферат дис. докт. техн. наук. Улан-Удэ, ВСГУТУ. — 32 с.
8. Васильева, И.О. (2011). Перспективы использования модифицированного коллагена в производстве мясных продуктов. *Вестник Российского государственного аграрного заочного университета*, 11 (16), 63–66.
9. Страйер, Л. (1984). Биохимия. Том 1. Пер. с англ. Москва, Мир. — 232 с.
10. Каспарьянц, С. А. (1989). Закономерности влияния ассоциативных и комплексообразующих свойств коллагена на его состояние и эффективное использование. Автореф. дис. докт. техн. наук. Москва, МИНХ им. Г. В. Плеханова. — 44 с.
11. ГОСТ Р 52688–2006. Препараты ферментные молоковертывающие животного происхождения сухие. Технические условия.
12. ГОСТ Р 53974–2010 Ферментные препараты для пищевой промышленности. Метод определения протеолитической активности. Технические условия.
13. Принципы и методы биохимии и молекулярной биологии. Ред. К. Уилсон и Дж. Уолкер; пер. с англ. — 2-е изд. Москва, Бинном. Лаборатория знаний, 2015. — 848 с.
14. Салаватулина, Р.М. (2005). Рациональное использование сырья в колбасном производстве. Санкт-Петербург, ГИОРД. — 248 с.
15. Calkins, C.R., Davis, G.V., Sanders, W.L. (1980). Fragmentation index of raw muscle as a tenderness predictor of steaks from USDA commercial and utility carcasses. *Journal of Food Science*, 45 (1), 111–114.
16. Титов, Е.И., Апраксина, С.К., Литвинова, Е.В. (2015). Влияние биомодификации на свойства коллагенсодержащего сырья. *Инновации и инвестиции*, 6, 196–199.
17. Лукин, А.А. (2012). Гистологические изменения субпродуктов II категории крупного рогатого скота под действием ферментного препарата животного происхождения. *Технология и товароведение инновационных пищевых продуктов*, 5, 28–33.
18. Жаринов, А.И., Евтихов, П.Н., Марушина, С.А., Кузнецова, Т.Г. (2002). Ферментная модификация свойств мяса кур-несушек. *Мясная индустрия*, 12, 15–17.

19. Семенова, А.А., Туниева, Е.К., Горбатов, С.А. (2011). Перспективы применения трансглутаминазы для производства мясных продуктов. *Все о мясе*, 2, 6–8.
 20. Хамагаева, И.С., Ханхалаева, И.А., Хамаганова, И.В., Никифорова А.П. (2012). Применение пропионовокислых бактерий для производства продуктов из говядины. *Вестник ВСГУТУ*, 3 (38), 97.

21. Хабибуллин, Р.Э., Ежкова, М.С., Минивалеева, Э.И., Решетник, О.А. (2011). Влияние экзогенной молочнокислой ферментации на микроструктуру говяжьих субпродуктов 2 категории. *Вестник Казанского технологического университета*, 15, 189–194.

REFERENCES

1. Antipova, L.V. (2012). Principles of the rational use of the secondary collagen containing raw materials of the meat industry, monography. Voronezh, VGTA, 2012. 248 p. (in Russian).
 2. Patshina, M.V. (2013). Development of the technology of cooked meat products with the use of the collagen semi-prepared product from pork skin. Author's abstract of the dissertation for the scientific degree of Candidate of Technical Sciences. Kemerovo, KemTIPP, 22 p. (in Russian).
 3. Titov, E.I., Apraksina, S.K., Mitaseva, L.F., Novikova, V.N. (2006). Rational way of collagen-containing by-products processing. *Meat industry*, 9, 28–30. (in Russian).
 4. Antipova, L. V., Do Le Huu Nam. (2011). Investigation ability of applying proteolysis ferments in technology gelatin from new raw resources. *Proceedings of the Voronezh State University of Engineering Technologies*, 3, 12–17. (in Russian).
 5. Chernukha, I.M., Bogatyrev, A.N., Dydykin, A.S., Aslanova, M.A., Fedulova, L.V. (2014). Effect of polypeptides isolated from cattle abomasum on stomach regenerative processes in rats. *Voprosy Pitaniia*, 83 (5), 26–32. (in Russian).
 6. Tarasova, I.V., Rebezov, M.B., Perekhodova, E.A., Kosolotova, A.S., Zinina, O.V. (2014). Assessment of quality indicators of minced meat semi-prepared products with bio-modified raw material. *Young Scientist*, 8, 279–281. (in Russian).
 7. Bazhenova, B.A. (2014). Scientific substantiation and development of innovative technologies of meat products from yaks and horses of the Buryat ecotype. Author's abstract of the dissertation for the scientific degree of Doctor of Technical Science. Ulan-Ude, VSGUTU, 32p. (in Russian).
 8. Vasilieva, I.O. (2011). Prospects for the use of the modified collagen in the production of meat products. *Herald of Russian state agrarian correspondence university*, 11 (16), 63–66. (in Russian).
 9. Stryer, L. (1984). Biochemistry. Vol. 1. Translation from English. Moscow, Mir, 232 p. (in Russian).
 10. Kasparyants, S. A. (1989). Regularities of the effect of associative and complex-forming properties of collagen on its condi-

tion and effective use. Author's abstract of the dissertation for the scientific degree of Doctor of Technical Science. Moscow, G.V. Plekhanov MINH, 44 p. (in Russian).
 11. GOST R52688–2006. Enzyme milk-clotting of animal origin dry. Specifications. (in Russian).
 12. GOST R53974–2010 Enzyme preparations for food industry. Method for determination of proteolytic activity. (in Russian).
 13. Principles and techniques of biochemistry and molecular biology / edited by Keith Wilson, John Walker.— 2nd ed. Moscow, BINOM. Knowledge Laboratory”, 2015, 848 p. (in Russian).
 14. Salavatulina, R.M. (2005). Rational use of raw materials in sausage production. St. Petersburg, GIORD, 248 p. (in Russian).
 15. Calkins, C.R., Davis, G.V., Sanders, W.L. (1980). Fragmentation index of raw muscle as a tenderness predictor of steaks from USDA commercial and utility carcasses. *Journal of Food Science*, 45 (1), 111–114.
 16. Titov, E.I., Apraksina, S.K., Litvinova, E.V. (2015). An effect of biomodification on properties of collagen containing raw materials. *Innovations and Investments*, 6, 196–199. (in Russian).
 17. Lukin, A.A. (2012). Histological changes of offal II category of cattle under the influence of an enzyme preparation of animal. *Technology and the study of merchandise of innovative food-stuffs*, 5, 28–33. (in Russian).
 18. Zharinov, A.I. Evtihov, P.N., Marushina, S.A., Kusnetsova, T.G. (2002). Enzyme modification of properties of laying hens meat. *Meat industry*, 12, 15–17. (in Russian).
 19. Semenova, A.A., Tunieva, E.K., Gorbatov, S.A. (2011). Prospects for using transglutaminase for meat product manufacture. *Vsyo o myase*, 2, 6–8. (in Russian).
 20. Khamagaeva, I.S., Khankhalaeva, I.A., Khamaganova, I.V., Nikiforova, A.P. (2012). The application of propionibacteria for beef products manufacture. *ESSUTM Bulletin*, 3 (38), 97. (in Russian).
 21. Khabibullin, R.E., Ezhkova, M.S., Minivaleeva, E.I., Reshetnik, O.A. (2011). An effect of exogenous lactic acid fermentation on microstructure of beef by-products of the 2nd category. *Bulletin of the Technological University*, 15, 189–194. (in Russian).

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Принадлежность к организации

Баженова Баяна Анатольевна — доктор технических наук, доцент, профессор кафедры «Технология мясных и консервированных продуктов», Восточно-Сибирский государственный университет технологий и управления
 670013, г. Улан-Удэ, ул. Ключевская, 40в
 Тел.: +7-902-454-21-46
 E-mail: bayanab@mail.ru
 * автор для контактов

Данилов Андрей Михайлович — аспирант кафедры «Технология мясных и консервированных продуктов», Восточно-Сибирский государственный университет технологий и управления
 670013, г. Улан-Удэ, ул. Ключевская, 40в
 Тел.: +7-902-163-95-27
 E-mail: andreyka.danilov.87@mail.ru

Критерии авторства

Авторы в равных долях имеют отношение к написанию рукописи и одинаково несут ответственность за плагиат.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 22.08.2017

AUTHOR INFORMATION

Affiliation

Bayana A. Bazhenova — doctor of technical Sciences, docent, Professor of the Department «Technology of meat and canned products», The East-Siberian state University of technology and management
 670013, Ulan-Ude, Klyuchevskaya str., 40v
 Tel: +7-902-454-21-46
 E-mail: bayanab@mail.ru
 * corresponding author

Andrey M. Danilov — postgraduate student of the Department «Technology of meat and canned products» The East-Siberian state University of technologies and management
 670013, Ulan-Ude, Klyuchevskaya str., 40v
 Tel: +7-902-163-95-27
 E-mail: andreyka.danilov.87@mail.ru

Contribution

The authors equally contributed to the writing of the manuscript and are equally responsible for plagiarism.

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

Received 22.08.2017