

Ключевые слова:

черный макрурус, мышечная ткань, белки, ферменты, прочность, электрофорез

Keywords:

black macrurus (grenadier), muscle tissue, proteins, enzymes, strength, electrophoresis

Исследование качества мышечной ткани черного макруруса (гренадера) *Coryphaenoides acrolepis* в процессе переработки

DOI

Доктор биологических наук, профессор

Т.Н. Пивненко – кафедра «Пищевая биотехнология»;

Кандидат технических наук

Ю.М. Позднякова – директор НИИ инновационных биотехнологий;

Кандидат технических наук, доцент **В.В. Кращенко** –

заведующая кафедрой «Пищевая биотехнология»;

Кандидат технических наук

Р.М. Есипенко – младший научный сотрудник Научно-инновационного центра «Морские биотехнологии»;

Кандидат технических наук

Е.В. Михеев – научный сотрудник Научно-инновационного центра «Морские био-технологии» –

Дальневосточный

государственный технический рыбохозяйственный университет (ФГБОУ ВО «Дальрыбвтуз»)

@ tnpivnenko@mail.ru;

pozdneyakova.julia@yandex.ru;

victoriy_vl@mail.ru;

festfu@mail.ru;

zhenyasuper79@mail.ru

STUDY OF THE QUALITY OF MUSCLE TISSUE OF THE BLACK MACRURUS (GRENADE) *CORYPHAENOIDES ACROLEPIS* IN THE PROCESS OF ITS PROCESSING

Doctor of Biological Sciences, Professor **T.N. Pivnenko** – Department of "Food Biotechnology"; Candidate of Technical Sciences **Yu.M. Pozdneyakova** – Director of the Research Institute of Innovative Biotechnologies;

Candidate of Technical Sciences, Associate Professor **V.V. Kraschenko** – Head of the Department "Food bio-technology";

Candidate of Technical Sciences **R.M. Esipenko** – Junior Researcher of the Scientific and Innovation Center "Marine Biotechnologies";

Candidate of Technical Sciences **E.V. Mikheev** – Researcher of the Scientific and Innovation Center "Marine Biotechnologies" –

Far Eastern State Technical Fisheries University (FGBOU VO "Dalrybvtuz")

The research of physico-chemical and organoleptic quality indicators of the black macrurus (grenadier) *Coryphaenoides acrolepis* caught under industrial conditions in the South Kuril subzone of the Sea of Okhotsk is presented. The analyzed samples included whole and eviscerated specimens of standard quality, as well as individual specimens with the consistency of muscle tissue characterized as «rubber-like». Comparative analysis showed statistically significant similarity of muscle tissue strength indicators before and after heat treatment, protein fraction content, moisture retention capacity, degree of protein denaturation, enzyme activity and a number of other characteristics for standard samples prepared by various methods and differing in size. Samples with a «rubber-like» consistency sharply differed in all the studied parameters except for enzymatic activity. When separating the proteins of black grenadier muscle tissue by electrophoresis was conducted, differences in the species-specific patterns of the compared samples were found. Assumptions have been made about the causes of the detected changes.

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время промышленный промысел глубоководных видов рыб имеет большие перспективы, благодаря оснащению

судов современными ярусно-постановочными комплексами. Наиболее распространенными из глубоководных видов являются рыбы, относящиеся к семейству

макрурид *Macrouridae*, родственные тресковым *Gadidae*. Известны более 300 видов этого семейства, обитающих на глубинах более 1000 метров. Однако большинство из них не имеют промыслового значения из-за их малых размеров, низкого выхода мышечной ткани, ее чрезмерной мягкости и обводненности [1-3]. Всего лишь несколько видов характеризуются хорошими или удовлетворительными пищевыми качествами. Это макрурусы (они же гренадеры или долгохвосты) малоглазый *Albatrossia pectoralis*, пепельный *Coryphaenoides cinereus*, длинноперый *Coryphaenoides longifilis* и черный *Coryphaenoides acrolepis*. Среди них самым многочисленным видом в северной части Тихого океана является макрурус малоглазый или гигантский гренадер. Однако, несмотря на хорошие питательные свойства и большие запасы, существенными недостатками этого объекта являются высокая обводненность мышечной ткани и большие технологические потери при различных способах обработки [4]. Начиная с глубины 1400 м наблюдается явное преобладание черного макруруса по биомассе и численности. Объем его добычи составляет около 15% вылова всех глубоководных рыб [2; 3], а его пищевая ценность и потребительские качества существенно выше, чем у макруруса малоглазого. Ареал обитания чёрного макруруса показан на рисунке 1.

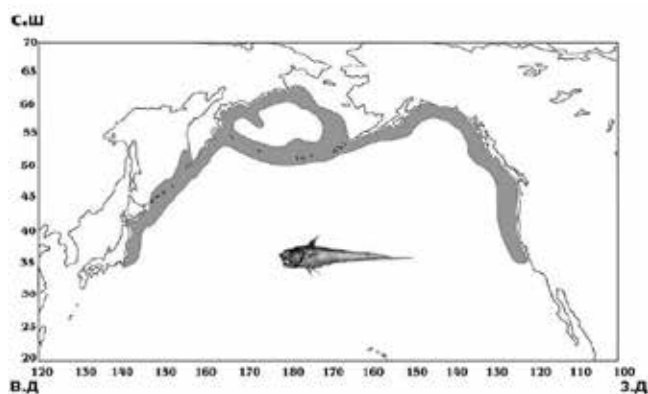


Рисунок 1. Ареал распространения чёрного макруруса [5]
Figure 1. The distribution area of the black macrurus [5]

Обитает этот вид в придонных слоях воды на глубине от 300 до 3700 м, с наибольшей встречаемостью на 600-2500 метров. Имеет массивное туловище, лентовидную хвостовую часть, однотонную черную или темно-коричневую окраску чешуи, темные плавники (рис. 2).

Максимальные отмеченные параметры: длина тела 104 см, масса тела 5 кг. Доля мышечной ткани от общей массы рыбы составляет около 24%. Доля тушки без головы, внутренностей и большей части хвоста составляет около 50% от общей массы. Мышечная ткань приятного белого цвета имеет плотную консистенцию при содержании воды около 82%, белков – 16%, липидов – 1%. Большое количество белка является основной отличительной характеристикой этого вида по сравнению с другими макрурусами [1; 6]. Высокие пищевые и органолептические показа-

Приведены результаты исследований физико-химических и органолептических показателей качества черного макруруса (гренадера) *Coryphaenoides acrolepis*, заготовленного в условиях промысла в Южно-Курильской подзоне Охотского моря. Анализируемые образцы включали цельные и потрошенные экземпляры стандартного качества, а также – отдельные экземпляры с консистенцией мышечной ткани, характеризуемой как «резинистая». Сравнительный анализ показал статистически значимое сходство данных прочности мышечной ткани до и после термической обработки, содержания белковых фракций, влагоудерживающей способности, степени денатурации белков, активности ферментов и ряда других характеристик для стандартных образцов, заготовленных различными способами и отличающихся размерами. Образцы с «резинистой» консистенцией резко отличались по всем исследуемым показателям кроме ферментативной активности. При разделении белков мышечной ткани черного макруруса методом электрофореза обнаружены различия видоспецифических паттернов сравниваемых образцов. Выдвинуты предположения о причинах, вызывающих обнаруженные изменения.

тели мышечной ткани черного макруруса обуславливают возможности его широкого применения в пищевой промышленности, ресторанной индустрии и домашней кулинарии.

Однако среди общей массы улова отмечены экземпляры с необычными свойствами, их мышечная ткань имеет «резинистую» консистенцию, усиливающуюся в процессе тепловой обработки. Для нее характерны жесткость, трудное отделение мышц от костей, плохая разжевываемость. Согласно справочной литературе, в описании известных в настоящее время видов макрурусов, характеристика их мышечной ткани включает такие термины как мягкая, нежная, сочная [7]. Только для двух видов – гребенчатого и южно-атлантического макрурусов – для описания мышечной ткани используют термин плотная, а в отварном виде – жестковатая, резинистая. А.Б. Одинцов упоминает, что в уловах южно-атлантического макруруса встречались отдельные экземпляры, имевшие жесткую, «резинистую» консистенцию, хрустящую при разжевывании [8]. Однако точные причины этого явления не ясны.

Целью данной работы было изучить влияние различных факторов на качество мышечной ткани черного макруруса в процессе его переработки.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Объект исследования – черный макрурус (гренадер) *Coryphaenoides acrolepis*, выловленный рыболовецкой компанией «Восток-1» в Южно-Курильской подзоне Охотского моря в августе 2020 г. на глубине от 1000 м и более. Образцы рыб, цельных и разделанных в виде тушек (так как они заготавливаются на судах для дальнейшей поставки потребителям), были представлены в замороженном виде.

Величину прочности образцов определяли на приборе Валента ВЦ-1 с грибовидным индентором. Фрак-

ционный состав белков определяли путем ступенчатой экстракции мышечной ткани, как это описано в работе [4]. Количество воды измеряли на инфракрасном влагомере Kett F-1A (Kett Electric Laboratory, Япония). Влагоудерживающую способность (ВУС) определяли методом прессования. Изоэлектрическую точку (ИЭТ) определяли методом осаждения. Степень денатурационных изменений белков при термической обработке соответствовала изменению способности миофибриллярных белков растворяться в стандартных солевых растворах. Количественное выражение степени денатурации (%) рассчитывали по отношению разницы массовой доли солерастворимых белков до и после термической обработки к ее исходной величине.

Определение протеолитической активности проводили по количеству растворимых белковых компонентов, образующихся при инкубации субстратов с гомогенатом мышечной ткани. В качестве субстратов использовали 2%-ные растворы гемоглобина (рН 4,5; 6,0) и казеина (рН 8,0). К 2 мл раствора субстрата добавляли 2 г гомогената, выдерживали 60 мин. при 37°C. Реакцию останавливали добавлением равного объема 5%-ного раствора трихлоруксусной кислоты, фильтровали и измеряли оптическую плотность при длине волны 280 нм. За единицу активности принимали такое количество образца, которое приводит к увеличению поглощения на 1 оптическую единицу за 1 мин. (Е/г).

Определение активности транслугаминазы (ТГ) проводили по изменению количества ϵ -аминогрупп лизина в белковом субстрате – казеине [9]. В ходе реакции образования изопептидных связей снижается количество ϵ -аминогрупп лизина, которые при взаимодействии с о-фталиевым диальдегидом образуют окрашенный раствор. Количество продуктов реакции оценивали по изменению оптической плотности при 340 нм. Расчет активности проводили с использованием калибровочного графика, построенного по L-лейцину.

Электрофорез (ЭФ) проводили при следующих условиях: 10%-ный полиакриламидный гель в присутствии додецилсульфата натрия (ДСН-ПААГ), напряжение 220 В, ток 10 мА, мощность 2,5 Вт, температура 15°C. Окрашивали пластинки 0,01%-ным раствором Кумасси G-250, через 3 ч. промывали дистиллированной водой. Условия экстракции мышечной ткани: образцы измельчали в ступке, навеску массой 0,5 г заливали 2 мл 2%-ного водного раствора ДСН, через 30 мин. центрифугировали при 12000 об/мин в течение 15 минут. После фильтрации отбирали по 0,25 мл раствора, добавляли 1,5 мл 0,5 М трис-НСl буфера с рН 6,8, нагревали при 95°C в течение 5 минут. После охлаждения раствор фильтровали и использовали для ЭФ. Молекулярную массу (Мм) белков определяли по калибровочному графику, построенному в координатах зависимости R_f от Мм по значениям, соответствующим стандартным маркерным белкам: 8, 12, 20, 30, 45, 60, 100, 220 кДа (наборы Sigma-Aldrich, США). Денситограммы снимали при помощи программы Image J для Windows (Wayne Rasband).

Для статистического анализа использовали прикладной пакет «Statistica 6». Выборочные параметры, приводимые в таблицах: средняя арифметическая



Рисунок 2. Внешний вид чёрного макруруса целиком и тушки после разделки

Figure 2. The appearance of the whole black macrurus and the carcass after cutting

(M), стандартное отклонение (σ), объем анализируемой подгруппы (n). Уровень доверительной вероятности 95%.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

По данным донного траления, проведенного учеными ТИНРО-Центра [2], на материковом склоне отмечались особи длиной от 12 до 104 см и массой до 5 кг. При этом около 90% экземпляров имели длину тела 35-75 см с массой менее 2 кг. Для размерного ряда черного макруруса из донных уловов отмечено наличие 2-х модальных групп 36-48 и 58-78 см. В Беринговом и Охотском морях доминировали рыбы длиной 36-50 см. Адаптацию молодежи к придонному образу жизни наблюдали при длине тела 2-40 см, после достижения длины 44-48 см рыбы вновь поднимались в толщу воды и отходили от материкового склона. Рыбы такого размера могут переходить на стадию нереста. Предельный возраст черного макруруса может достигать 20 лет, в уловах основными являются 3-12-ти-летние особи. В течение 1 года рыбы достигают длины 15-18 см, 2 – 26-28 см, 3 года – 35-39 см. Следовательно, для оценки факторов, влияющих на свойства мышечной ткани черного макруруса, важно знать возраст и физиологическое состояние отдельных особей, время, место и глубину промысла.

Предоставленные для исследования образцы были маркированы производителем обозначением – «PS (мелкая)» и соответствовали, предоставленным в таблице 1, параметрам.

Исходя из длины и массы тела, полученные цельные экземпляры черного макруруса могут быть отнесены к возрастной группе 5-6 лет. Для более детального изучения нами были выделены 2 размерные группы, несущественно отличавшиеся по длине тела, но значительно отличавшиеся по массе. Для образцов в виде тушек картина распределения была аналогичной, с учетом потерь при разделке, составляющих около 50% от общей

Таблица 1. Размерно-массовые характеристики черного макруруса, выловленного в Южно-Курильской подзоне на глубине от 1000 м / **Table 1.** Size and mass characteristics of black macrurus caught in the South Kuril subzone at a depth of 1000 m

Образцы	Размерная группа 1		Размерная группа 2	
	Длина, см	Масса, г	Длина, см	Масса, г
Цельная	52,5 ± 2,5	723 ± 127	58,5 ± 2,8	1175 ± 98
Тушка	23,3 ± 3,8	602 ± 153	29,1 ± 1,6	1020 ± 282

Примечание: n = 10, p < 0,05

Таблица 2. Фракционный состав белков мышечной ткани черного макруруса, % от общего количества / **Table 2.** Fractional composition of black macrurus muscle tissue proteins, % of total

Образцы	Водорастворимые	Солеорастворимые	Щелочерастворимые
П	52,7±2,6	35,2±0,7	18,6±4,0
М	47,8±3,3	33,1±2,0	21,5±2,2
«Резинистый»	51,2±0,9	17,9±0,5	36,3±0,5

Примечание: n = 5, p < 0,05

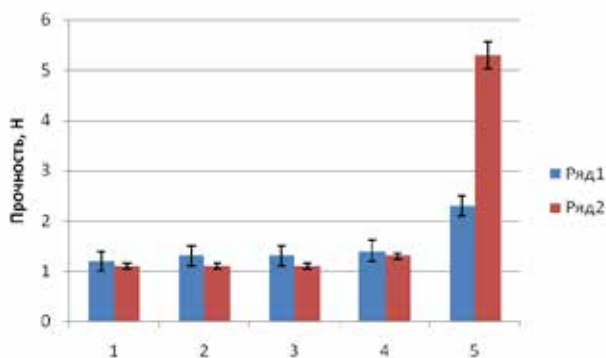


Рисунок 3. Изменение прочности мышечной ткани в образцах черного макруруса. Ряд 1 – до термообработки, ряд 2 – после термообработки. Образцы: неразделанные 1 – 1-ая размерная группа, 2 – 2-ая размерная группа; тушка 3 – 1-ая размерная группа, 4 – 2-ая размерная группа; 5 – «резинистый» образец. *Примечание: n = 5, p < 0,05*

Figure 3. Changes in the strength of muscle tissue in samples of black macrurus. Row 1 – before heat treatment, row 2 – after heat treatment. Samples: undivided 1 – 1st size group, 2 – 2nd size group; carcass 3 – 1st size group, 4 – 2nd size group; 5 – "rubbery" sample. *Note: n = 5, p < 0.05*

массы. При этом длина и масса тушек в отличие от цельных рыб варьировались в очень широком диапазоне величин. Единичные образцы с мышечной тканью, консистенцию которой можно было охарактеризовать как «резинистая», были представлены в виде тушек, соответствующих размерной группе 2.

Для сравнения реологических и органолептических свойств исследуемых образцов до и после термической обработки рыбу, разделанную на равные

куски филе без кожи размером 2x2 см, прогревали в воде при соотношении 1:2 и температуре 100±2° С в течение 2,0±0,5 минут. В таких условиях мышечная ткань сохраняла свою целостность, приобретая кулинарную готовность. При увеличении времени термической обработки мышечная ткань распадалась на миосепты и определить ее прочностные характеристики было невозможно.

Органолептические качества образцов, независимо от способа заготовки обеих размерных групп, не отличались между собой, мышечная ткань имела сероватый цвет, неупругую консистенцию. После термообработки ткань приобретала молочно-белый или молочно-розовый цвет, мягкую, нежную консистенцию. «Резинистые» образцы имели темно-серый цвет и очень плотную структуру до варки, после которой интенсивность цвета усиливалась, консистенция становилась еще более плотной, от упругой до жесткой, а мясо с трудом отделялось от костей. Изменения реологических характеристик представлены на рисунке 3.

Реологические свойства мышечной ткани черного макруруса не зависели от способа разделки, применяемого на судах, и размерного ряда в пределах предоставленных образцов. Прочность для цельных образцов до термической обработки изменялась от 0,9 до 1,6, а после – от 0,8 до 1,3 Н. Для образцов с «резинистой» консистенцией показатели прочности были существенно выше. Они составили: до термической обработки 2,3 Н, а после – 5,3 Н.

Далее в мышечной ткани тех экземпляров рыб, для которых были получены максимальные и минимальные значения прочности (в пределах измеренных величин), обозначаемых далее, как «условно мягкие – М» и «условно прочные – П», а также в «резинистых» образцах были определены физико-химические показатели. При исследовании фракционного состава белков определяли количество водорастворимых (саркоплазматических), солеорастворимых (миофибриллярных) и щелочерастворимых (соединительнотканых) белков. Сар-

коплазматические белки, растворимые в средах с низкой ионной силой, не оказывают существенного влияния на текстуру продукта. По содержанию миофибриллярных белков (актина и миозина), растворимых в средах с высокой ионной силой, прогнозируют функционально технологические свойства готовой продукции. Фракция щелочерастворимых белков содержит коллаген и эластин, скрепляющие мышечные волокна, обеспечивая цельность мышечной ткани, их повышенное содержание определяет жесткость ткани. В нативном состоянии коллаген и эластин образуют очень прочные структуры, при термообработке их волокна способны укорачиваться и уплотняться, обеспечивая увеличение прочности мышечной ткани в целом [10]. Соотношение указанных белковых фракций представлено в таблице 2.

Согласно полученным результатам, не установлено существенных различий в количестве водорастворимых белков, как в образцах, отличающихся по прочности в пределах группы со стандартными органолептическими характеристиками, так и в «резинистых» образцах. Однако в последних доля солерастворимых миофибриллярных белков, отвечающих за образование структуры типичного пищевого продукта, была практически в 2 раза ниже, а доля соединительнотканых белков – в 1,5-2 раза выше. Тепловая денатурация белков также вызывает определенные изменения органолептических свойств мышечной ткани: миофибриллярные белки размягчаются, соединительнотканые, наоборот, упрочняются. Их соотношение и создает общую картину изменений качества готового продукта.

Степень денатурации солерастворимых белков различных образцов черного макруруса составила для образцов: группы М – $74,4 \pm 2,6\%$, группы П – $69,8 \pm 4,1$ и «резинистых» – $97,41 \pm 1,2\%$. Очевидно, что в образцах со стандартной консистенцией мышечной ткани степень денатурации белков была существенно ниже, чем в «резинистых».

Далее рассматривали такие характеристики мышечной ткани как ВУС, содержание воды и ИЭТ белков (табл. 3). В высокоорганизованной миофибриллярной структуре белки связывают воду химически и физически в пространстве между волокнами. ВУС характеризует способность белкового матрикса удерживать воду при таких внешних воздействиях, как термообработка, центрифугирование и прессование, и зависит от pH, концентрации соли и температуры. Сочность, нежность, вкус и другие свойства зависят от гидратации мышечной ткани на всех стадиях технологического процесса.

Для денатурированных белков наблюдается снижение ВУС, в свою очередь на денатурацию могут влиять длительное морозильное хранение, концентрация соли и тепловая обработка. Для «резинистых» образцов наблюдали очень низкие значения ВУС, что соответствовало высокой степени денатурации миофибриллярных белков, снижению их гидрофильности и органолептическим свойствам.

После окончания стадии окоченения и понижения pH тканей, приближающегося к ИЭТ, способность белков к связыванию воды снижается [10]. В этой области происходит синерезис белкового геля и его упрочнение. При сдвиге pH пищевой системы от ИЭТ, заряженные группы молекулы белка способны абсорбировать молекулы воды с образованием гидратной оболочки, усиливая устойчивость белкового геля. Мышечная ткань черного макруруса имела практически нейтральную реакцию (pH $6,7 \pm 0,1$), а ИЭТ была в пределах 5,0-5,3 для всех образцов. Поэтому данный фактор не может определять изменения, вызывающие снижение ВУС и изменение консистенции мышечной ткани.

Еще одним фактором, существенно влияющим на изменение мышечной ткани рыб после вылова, является активность тканевых ферментов, в частности, протеолитических (протеаз). Эти ферменты являются необходимыми компонентами, присутствующими во всех клетках организма, обеспечивая нормальный метаболизм. При этом для каждой ткани и для каждого вида характерны свой набор и активность протеаз. В мышечных волокнах и внеклеточном матриксе рыб протеазы локализованы, в основном, в лизосомах и цитозоле, но ряд из них находится в саркоплазме и связан с миофибриллами. После распада тканей большинство ферментов переходят в саркоплазму. В процесс посмертной тендеризации вовлечены катепсины (pH-оптимум 5,5-6,5) и кальпайны (pH-оптимум 7), обеспечивающие синергетический вклад в посмертное размягчение мышц [11]. В таблице 4 приведены данные по активности протеаз в изучаемых образцах черного макруруса. Активность протеаз для образцов со стандартной консистенцией аналогична, как в количественном выражении, так и в распределении по областям pH. При этом все полученные значения активности очень низки и вероятность того, что они могут вызывать изменение мышечной ткани макруруса крайне мала. Активность протеаз в «резинистых» образцах при pH 4,5 находилась в том же диапазоне. При двух других значениях pH активность ферментов была существенно выше. Однако сравнение с литературными данными показывает, что и эти значения не высоки. Например, в образцах проб мышечной ткани незрелых особей минтая активность в диапазоне pH 6-7 не превышает

Таблица 3. Показатели ВУС, содержания воды и ИЭТ для различных образцов макруруса / **Table 3.** Indicators of VUS, water content and IET for various samples of macrurus

Образец	ВУС, %	Содержание воды, %	ИЭТ
П	$44,4 \pm 0,9$	$67,9 \pm 4,1$	5,0
М	$47,5 \pm 1,2$	$74,4 \pm 3,4$	5,3
«Резинистый»	$32,2 \pm 4,2$	$66,12 \pm 3,2$	5,0

Примечание: n = 4, p < 0,05

0,9 Е/г, а в образцах проб мышечной ткани созревших особей сельди составляет более 6 Е/г [4; 11; 12]. Соответственно этому, активность протеаз не может в значительной степени влиять на консистенцию мышечной ткани черного макруруса в процессе его переработки.

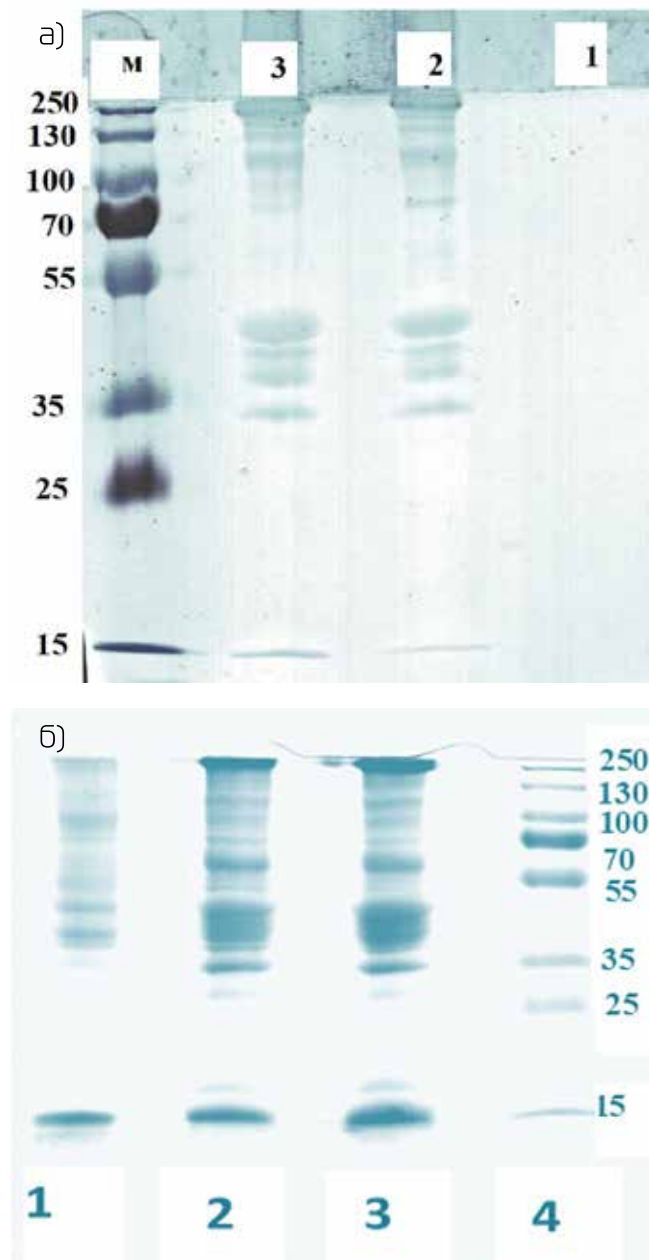


Рисунок 4. Электрофореграммы разделения белковых фракций мышечной ткани черного макруруса: 1 – резиновый образец; 2 – крупноразмерный экземпляр; 3 – мелкоразмерный экземпляр; 4 – маркерные белки с указанием их молекулярной массы (кДа). А – масса проб – 0,5 г; Б – масса проб – 2,5 г.
Figure 4. Electrophoregrams of separation of protein fractions of black macrurus muscle tissue: 1 – a rubbery sample; 2 – a large-sized specimen; 3 – a small-sized specimen; 4 – marker proteins indicating their molecular weight (kDa). A – sample weight – 0.5 g; B – sample weight – 2.5 g.

Характерной особенностью глубоководных рыб, связанной с адаптацией к условиям обитания, является повышенная активность тканевой транслугтаминазы (ТГ). Основным субстратом для ТГ в мышечных системах является миозин. Под действием этого фермента образуются межмолекулярные сшивки, а полимеры миозина формируют прочные и эластичные гели. Колебания уровней активности ТГ весьма значительны у различных видов и у разных особей, в пределах вида, в зависимости от среды обитания, кормовой базы и физиологических условий. В процессе переработки рыб также наблюдается высокая изменчивость активности ТГ [13; 14]. Для определения активности ТГ нами была использована методика, основанная на изменении количества ϵ -аминогрупп лизина в молекулах казеина, подвергнутых действию ТГ из экстракта тканей [9]. Для стандартных образцов количество остаточных немодифицированных ϵ -аминогрупп лизина составило – $0,024 \pm 0,009$ мкмоль//мл, для «резиновых» образцов – $0,042 \pm 0,012$ мкмоль//мл. Известно, что среди глубоководных рыб наибольшая активность ТГ характерна для макруруса малоглазого [14]. Применяв данный метод к мышечной ткани этого объекта, мы получили значение $0,032 \pm 0,008$ мкмоль//мл. Интерпретация полученных данных не позволяет сделать вывод о каком-либо существенном влиянии ТГ на образование «резиновой» консистенции мышечной ткани у макруруса черного.

Для того, чтобы исключить или подтвердить возможность присутствия в прилове другого вида рыб была проведена проверка видовой принадлежности «резиновых» образцов, представленных в виде тушек, методом ЭФ в ДСН-ПААГ. Метод основан на видовой специфичности качественного состава белков мышечной ткани рыб. Идентификацию проводят путем сравнения картин распределения белковых фракций анализируемого образца с референс-образцом. В качестве референсных используют образцы продукции, для которых точно установлена видовая принадлежность. В РФ для этих целей разработан ГОСТ Р 54414-2011 «Национальный стандарт Российской Федерации. Рыба и продукция из нее. Видовая идентификация рыбы методом электрофореза с додецилсульфатом натрия в полиакриламидном геле». Он распространяется на рыбу-сырец, охлажденную, мороженую, а также – отварную, копченую, соленую продукцию и фаршевые изделия. Результаты анализа приводят в виде электрофореграммы – картины распределения белков на пластинке ПААГ. В результате ЭФ выделенных белков из мышечной ткани референс-образцов из разных видов рыб могут быть получены аналогичные или отличающиеся друг от друга картины распределения белковых фракций. В зарубежных источниках также отмечена достоверность использования этого метода при обнаружении фальсифицированной рыбной продукции и подтверждения маркировки продукции [15].

На рисунке 4 представлены электрофореграммы разделения белков-маркеров, стандартных и «резиновых» образцов в указанных условиях.

В первичных экспериментах (рис. 4А) использовали навески по 0,5 грамма. Для «резинового» об-

Таблица 4. Активность протеолитических ферментов в мышечной ткани черного макруруса / **Table 4.** Activity of proteolytic enzymes in black macrurus muscle tissue

Образец	Активность, Е/г		
	pH 8,0	pH 6,0	pH 4,5
М	0,046±0,012	0,081±0,009	0,052±0,016
П	0,093±0,10	0,095±0,026	0,053±0,020
«Резинистый»	0,125±0,09	0,560±0,079	0,042±0,032

Примечание: n = 4, p < 0,05

разца обнаружили следовые количества белков, что не позволило оценить их распределение. Это свидетельствует о резких отличиях в состоянии мышечных белков этого образца, а именно: высокой степени денатурации и низкого содержания водо- и солерастворимых фракций. В следующем эксперименте мы увеличили навески в 5 раз. Только в этом случае удалось достаточно четко визуализировать компоненты «резинистого» образца (рис. 4Б).

Как показано на рисунке 4, даже при 5-кратном увеличении навески, взятого для анализа материала, содержание белка в «резинистом» образце существенно меньше. Об этом свидетельствует интенсивность и ширина окрашенных полос. Для детальной характеристики и определения Мм белков было проведено сканирование пластинок с помощью компьютерной программы Image J. На рисунке 5 представлены денситограммы для образцов 1 и 2. Паттерн образца 3 полностью совпал с таковым для образца 2, поэтому на рисунке он не приведен.

При сопоставлении величин распределения маркерных белков по длине пробега был построен калибровочный график, позволивший определить Мм каждой из белковых фракций (пиков), присутствующих на денситограммах. Для стандартных образцов обнаружены фракции с Мм: 17 (II); 22 (III); 30(IV); 37(V) 45 (VI); 48(VII); 50(VIII); 55(IX); 60(X); 70(XI); 95(XII); 108 (XIII); 130 (XIV); 250 (XV) кДа. Для «резинистого» образца это распределение имело следующий вид: 12 (I); 37(V); 45 (VI); 48(VII); 50(VIII); 55(IX); 70(XI); 95(XII); 108 (XIII); 130 (XIV); 250 (XV) кДа. Для стандартных образцов

черного макруруса показана абсолютная идентичность распределения и количественного состава фракций. Для «резинистого» образца кроме, уже указанного, низкого содержания белка, отмечены следующие существенные различия: наличие фракции Мм 12 кДа; полное отсутствие белков с Мм 22, 30 и 60 кДа и значительное снижение содержания фракций с Мм 37 и 250 кДа.

Миофибрилярные белки, определяющие пищевую ценность и органолептические свойства мясной и рыбной продукции – актин (Мм 45-48 кДа) и миозин. Последний состоит из тяжелых (Мм 220-250 кДа) и легких цепей (Мм 15-27 кДа). В «резинистом» образце содержание миозина существенно ниже, чем в стандартных, а количество соединительнотканых – выше (табл. 2). Это определяет повышенную жесткость и упругость данного образца.

Основными видоспецифичными белками являются миогены и парвальбумины, сохраняющиеся при различных способах переработки [15; 16]. Термин «миоген» является собирательным понятием. В состав белков группы миогена входят миоглобин и разнообразные белки-ферменты, локализованные в митохондриях и катализирующие процессы тканевого дыхания, окислительного фосфорилирования, азотистый и липидный обмен. Мм белков этой группы варьируется в широком диапазоне значений от 60-90 до 120-150 кДа. Именно в этой области находится, отсутствующий в «резинистом» образце, компонент с Мм 60 кДа. Известно также, что при очень длительном низкотемпературном хранении значительно снижается содержание этого белка и, одно-

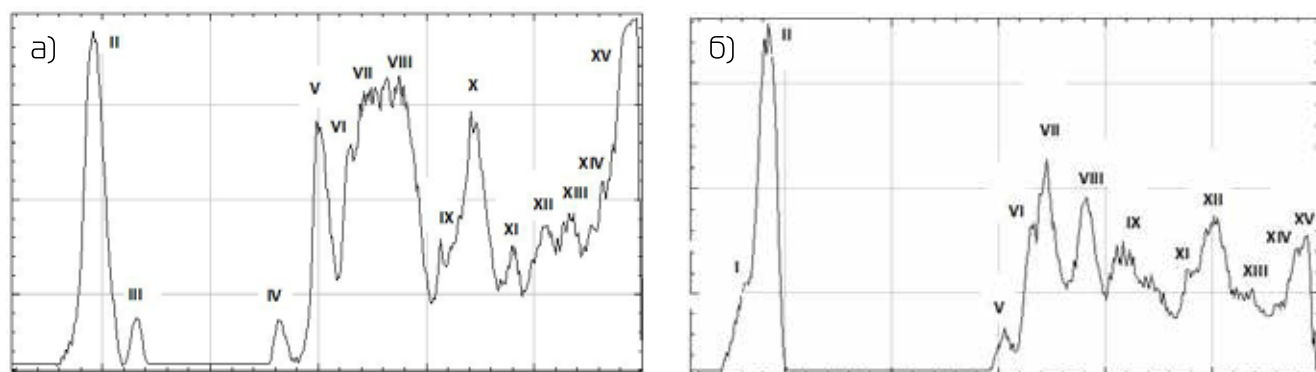


Рисунок 5. Денситограммы пластинок после разделения белков мышечной ткани стандартного экземпляра черного макруруса (А) и «резинистого» экземпляра (Б) с указанием номеров пиков, соответствующих отдельным молекулярным фракциям
Figure 5. Densitograms of plates after separation of muscle tissue proteins of a standard black macrurus specimen (A) and a "rubbery" specimen (B) with indication of peak numbers corresponding to individual molecular fractions

временно, происходит накопление низкомолекулярных белковых компонентов. Соответственно этому только «резинистые» образцы содержали самый мелкий белковый компонент (12 кДа). Группа саркоплазматических белков – парвальбуминов – также сохраняет видоспецифичность, их Мм составляет 9-12 кДа. В этот диапазон попадает, присутствующий в «резинистом» образце, компонент с Мм 12 кДа.

Таким образом, на данном этапе исследования выявлены существенные различия в составе белковых фракций образцов с очевидной видовой принадлежностью и «резинистых» – в виде тушек. Для того, чтобы установить являются ли они следствием видоспецифичности, длительного хранения или других факторов необходимо проведение дополнительных исследований с возможностями детального биологического и биохимического анализа на статистически значимом количестве образцов с «резинистой» консистенцией.

ВЫВОДЫ

Полученные результаты позволяют сделать следующие выводы. Черный макрурус обладает высокой пищевой ценностью и может быть рекомендован как продукт диетического питания. Анализ образцов, обладающих «резинистой» консистенцией, показал их значительные различия по сравнению с цельными и потрошенными рыбами со стандартными параметрами. Основные отличия мышечной ткани касаются распределения белковых фракций в сторону снижения количества миофибриллярных и увеличения доли соединительнотканых белков и, связанных с этим, показателей ВУС мышечной ткани и степени денатурационных изменений в процессе термообработки. Одновременно не установлено существенных изменений в активности ферментов мышечной ткани. Изменения фракционного состава белков мышечной ткани могут быть связаны со сложными агрегационными изменениями белковых молекул, в результате постепенного вымораживания тканевой жидкости, частичной денатурации и коагуляции, приводящих к снижению растворимости, изменению заряда и Мм белковых фракций. Указанные превращения белков влияют на их гидратацию, ВУС мышечной ткани, её консистенцию и сочность, на устойчивость белков к действию пищеварительных ферментов. В наибольшей степени этим изменениям подвержены миофибриллярные белки. Подробный анализ белковых компонентов методом ЭФ выявил различия видоспецифических паттернов сравниваемых образцов. Однако окончательное заключение о видовой принадлежности может быть сделано после дальнейшего детального изучения.

ЛИТЕРАТУРА И ИСТОЧНИКИ

- Matsui T., Kato S., Smith S.E. Biology and potential use of Pacific Grenadier, *Coryphaenoides acrolepis*, off California // *Marine fisheries Review*. – 1990. – № 52(3). – P. 17.
- Kodolov L.S. Некоторые данные по биологии чёрного макруруса *Coryphaenoides acrolepis* // *Известия ТИНРО*. – 2003. – Т.134. – С. 144-151.
- Matsui T., Kato S., Smith S.E. Biology and potential use of Pacific Grenadier, *Coryphaenoides acrolepis*, off California // *Marine fisheries Review*. – 1990. – № 52(3). – P. 17.
- Kodolov L.S. Some data on the biology of the black macrurus *Coryphaenoides acrolepis* // *Izvestia TINRO*. – 2003. – Vol.134. – Pp. 144-151.
- Tuponogov V., Novikov N.P. Grenadier as an important reserve of Far Eastern deep-sea fisheries // *Fisheries*. – 2016. – № 6. – Pp. 54-60.
- Pivnenko T.N., Karpenko Yu.V., Krashchenko V.V., Pozdnyakova Yu.M., Esipenko R.V. Biochemical factors affecting the quality of products and the technology of processing deep-sea fish, the Giant Grenadier *Albatrossia pectoralis* // *Journal of Ocean University of China*. – 2020. – V.19. – Pp. 681-690. DOI:10.1007/s11802-020-4273-z
- Токранов А.М. Промысловые рыбы материкового склона прикамчатских вод. / А.М. Токранов, А.М. Орлов, Б.А. Шейко – Петропавловск-Камчатский: Изд-во «Камчатпресс», 2005. – 52 с.
- Tokranov A.M. Commercial fish of the mainland slope of the Kamchatka waters. / A.M. Tokranov, A.M. Orlov, B.A. Sheiko – *Petropavlovsk-Kamchatsky: Publishing house "Kamchatpress"*, 2005. – 52 p.
- Шульгина Л.В., Давлетшина Т.А. Пищевая ценность макруруса черного – объекта глубоководного промысла. Материалы конференции «Материалы и методы инновационных научно-практических исследований и разработок». – Уфа: Omega science, 2019. – С. 25-29.
- Shulgina L.V., Davletshina T.A. Nutritional value of the black macrurus – an object of deep-water fishing. Materials of the conference "Materials and methods of innovative scientific and practical research and development". – Ufa: Omega science, 2019. – Pp. 25-29.
- Справочник по химическому составу и технологическим свойствам морских и океанических рыб. – М.: Изд-во ВНИРО, 1998. – 224 с.
- Handbook on the chemical composition and technological properties of marine and oceanic fish. – Moscow: VNIRO Publishing House, 1998. – 224 p.
- Одинцов А.Б. Использование рыб Атлантического Океана – М.: Колос-пресс, 2001. – 144 с.
- Odintsov A.B. The use of fish of the Atlantic Ocean – М.: Kolos-press, 2001. – 144 p.
- Dinnella C., Gargaro M.T., Rossano R., Monteleone E. Spectrophotometric assay using o-phthalaldehyde for the determination of transglutaminase activity on casein // *Food Chem.* – 2002. – V. 78(3). – Pp. 363-368. DOI:10.1016/S0308-8146(02)00109-7
- Tolano-Villaverde I.J., Torres-Arreola W., Ocaño-Higuera V.M., Marquez-Rios E. Thermal gelation of myofibrillar proteins from aquatic organisms // *CyTA Journal of Food*. – 2016. – V. 14(3). – Pp. 502-508. DOI: 10.1080/19476337.2015.1116024.
- Wasson D.H. Fish muscle proteases and heat induced myofibrillar degradation: A review. // *J. Aquat. Food Prod. Technol.* – 1992. – V. 1(2). – Pp. 23-41. DOI: 10.1300/J030v01n02_05
- Цибизова М.Е. Субстратная специфичность протеолитических ферментов нетрадиционных объектов промысла Волго-Каспийского бассейна / М.Е. Цибизова, К.В. Костюрина // *Вестн. Астрахан. гос. техн. ун-та. Сер.: Рыбное хозяйство*. – 2009. – № 2. – С. 121-126.
- Tsibizova M.E. Substrate specificity of proteolytic enzymes of non-traditional fishing objects of the Volga-Caspian basin / M.E. Tsibizova, K.V. Kostyurina // *Vestn. Astrakhan State Technical University un-ta. Ser.: Fisheries*. – 2009. – No. 2. – Pp. 121-126.
- Dong S.X., Holley R.A. Factors influencing gel formation by myofibrillar proteins in muscle foods // *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. – 2011. – V.10. – Pp. 33-51. DOI:10.1111/j.1541-4337.2010.00137.x
- Karaulova E.P., Yakush E.V. The comparative study of myofibrillar proteins of skeletal muscle of some deep-sea fish species // *Journal of Fisheries Sciences*. – 2017. – V.11(2). – Pp. 1-8.
- Etienne M., Jérôme M., Fleurence J., Rehbein H. Identification of fish species after cooking by SDS-PAGE and urea IEF: a collaborative study August // *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. – 2000. – V. 48(7). – Pp. 2653-2658.
- Лисицын А.Б. Изучение фракционного состава белков мяса в процессе длительного холодильного хранения / А.Б. Лисицын, А.Н. Иванкин, Н.Л. Вострикова, И.А. Становова // *Все о мясе*. – 2014. – № 2. – С. 36-40.
- Lisitsyn A.B. Studying the fractional composition of meat proteins during long-term storage / A.B. Lisitsyn, A.N. Ivankin, N.L. Vostrikova, I.A. Stanovova // *All about meat*. – 2014. – No. 2. – Pp. 36-40.