На правах рукописи

Федулова Лилия Вячеславовна

РАЗРАБОТКА НА ПРИНЦИПАХ ПРИЖИЗНЕННОЙ МОДИФИКАЦИИ ЖИВОТНЫХ ТЕХНОЛОГИИ МЯСНЫХ ПРОДУКТОВ, ОБЛАДАЮЩИХ НЕЙРОРЕАБИЛИТАЦИОННЫМ ДЕЙСТВИЕМ

Специальность 05.18.04 – технология мясных, молочных, рыбных продуктов и холодильных производств

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени кандидата технических наук

Москва 2011

Работа выполнена в Государственном научном учреждении Всероссийский научно-исследовательский институт мясной промышленности им. В.М. Горбатова Россельхозакадемии (ГНУ ВНИИ мясной промышленности им. В.М. Горбатова Россельхозакадемии).

Научный руководитель:	доктор технических наук, профессор Чернуха Ирина Михайловна
Официальные оппоненты:	доктор экономических наук, профессор Криштафович Валентина Ивановна
	кандидат технических наук, доцент Дыдыкин Андрей Сергеевич
Ведущая организация:	Государственное научное учреждение Всероссийский Государственный научно-исследовательский институт животноводства Россельхозакадемии

Защита диссертации состоится 31 мая 2011 г. в 14 часов 30 мин на заседании диссертационного совета ДМ 006.021.01 при ГНУ ВНИИ мясной промышленности им. В.М. Горбатова Россельхозакадемии по адресу:

109316, Москва, ул. Талалихина, 26.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ВНИИМП.

Автореферат разослан и размещен на сайте www.vniimp.ru
29 апреля 2011 г.

Отзыв на автореферат (в двух экземплярах), заверенный печатью, присылать по адресу: 109316, Москва, ул. Талалихина, 26

Ученый секретарь
диссертационного совета
кандидат технических наук, с.н.с. А.Н. Захаров

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность работы.

Цереброваскулярные заболевания относятся к одной из наиболее распространенных патологий человека. Ежегодно в мире инсульт настигает более 15 млн. человек.

Смертность от сосудистых заболеваний головного мозга стоит на втором месте и в экономически развитых странах составляет около 12% от общей смертности. В России же этот показатель достигает 20%. В 52% случаев пациенты, перенесшие инсульт, остаются инвалидами, нуждающимися в постоянном уходе.

Важную роль в профилактике и лечении цереброваскулярных заболеваниях уделяется питанию. Для снижения риска развития острых нарушений мозгового кровообращения в настоящее время предлагают различные биологически активные добавки и обогащенные продукты направленного действия, а также фармакотерапевтические средства (антитромботические, нейрометаболики, нейропротекторы, антиоксиданты и др.).

Применение нутрицевтиков у больных с цереброваскулярными заболеваниями считается одним из патогенетически обоснованных методов терапии, поскольку позволяет ускорить восстановление функций нервной системы и внутренних органов. Современные нутрицевтики, полученные путем экстрагирования отдельных ингредиентов из растительного и животного сырья, в отличие от синтетических аналогов, позволяют избежать или, по крайней мере, свести к минимуму развитие различных аллергических и токсических осложнений. Однако, несмотря на то, что разработано и внедрено в производство множество БАД для профилактики и лечения острых нарушений мозгового кровообращения, в настоящее время специализированных мясных продуктов нейрореабилитационного действия не разработано.

Таким образом, разработка мясных продуктов направленного противоинсультного действия в настоящее время является важной социальной и медицинской задачей.

Производство лечебно-профилактических продуктов, в том числе мясных, традиционно осуществляется путем обогащения (фортификации) их различными биологически активными веществами или лечебными препаратами. Анализ литературных данных и результаты диссертационных работ дают возможность утверждать, что возможно также получение специализированных продуктов направленного действия, путем прижизненной модификации жизнедеятельности и состояния здоровья животных с последующим получением мясного сырья противоинсультного типа действия.

В связи с этим актуальным направлением в области разработки лечебно-профилактического питания является изучение возможности

направленного воздействия на животных, с целью получения мясного сырья для производства мясных продуктов, обладающих профилактическим и нейрореабилитационным действием, с сохранением заданных свойств в готовом продукте.

Цели и задачи исследования. Целью настоящей работы является получение и изучение мяса свиней, перенесших моделирование геморрагического инсульта, и разработка на его основе рецептур мясных продуктов для питания больных цереброваскулярными заболеваниями.

Для реализации поставленной цели в ходе диссертационной работы решались следующие задачи:

- адаптировать методику воспроизведения острого аутогеморрагического инсульта на сельскохозяйственных животных, получить свинину, обладающую нейропротекторными свойствами;
- изучить физико-химические, биохимические, морфологические, токсикологические, функционально-технические характеристики мышечной ткани свиней, перенесших аутогеморрагический инсульт;
- выделить из мясного сырья активную фракцию полипептидов, обладающую требуемыми свойствами, и изучить ее природу и состав;
- разработать рецептуры мясного продукта, обеспечивающие сохранение в готовом продукте нейрореабилитационных свойств исходного мясного сырья;
- провести комплексную оценку готового мясного продукта, подтвердить безопасность готового мясного продукта в хронических опытах на лабораторных животных;
- изучить эффективность нейропротекторного действия мясного сырья и выделенных фракций в опытах на лабораторных животных по поведенческим и морфологическим показателям на ранних и отдаленных сроках реабилитации;
- разработать комплект технической документации на мясо свиней-реконвалесцентов для производства продуктов диетического питания.

Научная новизна работы

Впервые научно обоснована и изучена возможность создания мясного сырья с выраженным терапевтическим действием путем направленного воздействия на животных.

С использованием методики воспроизведения аутогеморрагического инсульта получено мясо (свинина), установлены и доказаны его антиинсультные свойства.

Изучены морфологические, физико-химические, биохимические, технологические и функциональные характеристики мясного сырья, полученного от постинсультных свиней.

Впервые из мясного сырья выделена активная фракция полипептидов с молекулярными массами в диапазоне 310 - 2600Да, в

опытах на лабораторных животных подтвержден ее терапевтический эффект.

Изучено влияние мясного сырья на лабораторных животных с моделью аутогеморрагической интрацеребральной гематомы в краткосрочном и отдаленном периодах заболевания.

Практическая ценность и реализация результатов.

Разработан рецептурный состав готовых мясных продуктов из свинины для профилактики и лечения цереброваскулярных заболеваний, обоснована технология их производства, обеспечивающая сохранение терапевтических эффектов и качественных показателей продукта в течение установленных сроков годности.

Разработаны нормативные документы на полученную свинину: ТУ 9211-956-00419779-10 «Свинина для диетического питания», технологическая инструкция по подготовке и переработке свиней; ТУ 9214-003-00419779-10 «Полуфабрикаты мясные из свинины для диетического питания», технологическая инструкция на их производство; СТО 00419779-001-2010 «Свинина для диетического питания».

Получен патент на изобретение № 2368383от 27.09.2009 г.

Апробация работы.

Материалы исследования доложены на Научно-практической конференции, Волгоград, 2008; 3-й Конференции молодых ученых и специалистов «Обеспечение качества и безопасности продукции агропромышленного комплекса в современных социально-экономических условиях», Москва, 2009; на 12-й (2009) и 13-й (2010) Международных научно-практических конференциях памяти В. М. Горбатова, Москва, ВНИИМП; Научно-практической конференции, Углич, 2010; на 55-ом (Копенгаген, 2009) и 56-ом (Чеджу, 2010) Международных конгрессах по науке и технологии мяса; 8-й международной научной конференции студентов и молодых ученых «Живые системы и биологическая безопасность населения», Москва, МГУПБ, 2010.

Публикации.

По материалам диссертации опубликовано 9 печатных работ.

Структура и объем диссертации.

Диссертационная работа изложена на 155 страницах машинописного текста и включает введение, обзор литературы, экспериментальную часть, содержащую результаты исследований и практические предложения, выводы, список литературы и приложения. Диссертация содержит 22 таблицы и 42 рисунка. Список использованной литературы включает в себя 240 источников, в том числе 155 работ отечественных авторов и 85 иностранных.

СОДЕРЖАНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОЙ РАБОТЫ

Во введении обоснована актуальность, сформулирована научная новизна и практическая значимость работы.

В первой главе приведен аналитический обзор научно-технических публикаций, посвященных вопросам коррекционного влияния питания на здоровье и популяционные показатели населения РФ, проанализированы особенности питания при недостаточности мозгового кровообращения. Обобщена информация о путях и способах создания пищевых продуктов с заданным составом и свойствами. Проанализирован и обобщен зарубежный и отечественный опыт по прижизненному формированию свойств мясного сырья, а также способов производства лечебных и профилактических продуктов. Анализ публикаций позволил определить цели и сформулировать задачи исследования.

Глава 2. Организация эксперимента. Объекты и методы исследования.

В качестве объектов исследования определены:

- свиньи, у которых воспроизводился геморрагический инсульт;

- мясное сырье от постинсультных свиней, для исследований отбирали *M. L. dorsi*, *M. L. cervicis*, печень;

- низкомолекулярные фракции, полученные из гомогенизата мышечных тканей свиней-реконвалесцентов;

- готовый мясной продукт – паштет из мяса свиней, выздоровевших после воспроизведения острого геморрагического инсульта;

-лабораторные животные, у которых моделировался инсульт, их органы и ткани.

Экспериментальные исследования проводили в условиях Экспериментальной клиники - лаборатории биологически активных веществ животного происхождения и других лабораториях ГНУ ВНИИМП им. В.М. Горбатова Россельхозакадемии, а также в лаборатории психофармакологии НИИ Фармакологии им. В.М. Закусова РАМН.

Проведение исследований осуществлялось в несколько этапов в соответствии со схемой, представленной на рис.1. Цифрами обозначены методы исследований качественных показателей сырья и готовой продукции: 1 – моделирование локального аутогеморрагического инсульта – по методике А.Н. Макаренко: у наркотизированных животных при помощи мандрен-ножа осуществляли деструкцию мозговой ткани в области внутренней капсулы с последующим введением в место повреждения крови, взятой из ушной вены животного (для свиней) или из подъязычной вены (для крыс); 2–5 содержание влаги, белка, жира, золы – по общепризнанным методикам; 6 – микро- и макроэлементный состав -

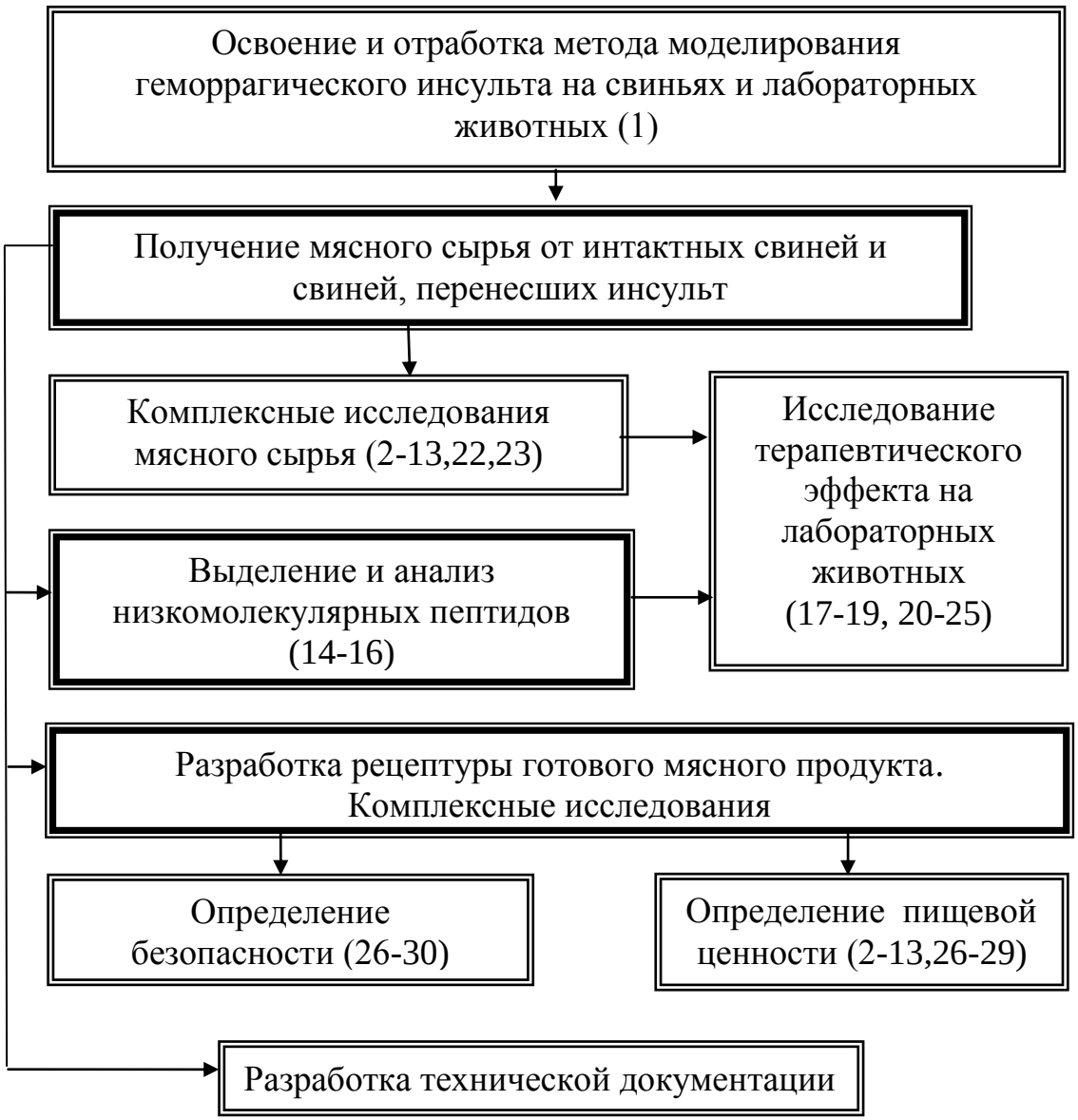


Рис.1. Схема организации эксперимента

по ГОСТ 30178-96, ГОСТ 26928- 86, ГОСТ 17681-82; 7 – pH на портативном pH-метре, модели 2696; 8 – влагосвязывающую способность – по методу прессования навески образца по методике Грау-Хамма в модификации Воловинской- Кельман; 10 – жирнокислотный состав – на газовом хроматографе «Hewlett Packard» (США) с капиллярной колонкой HP Innowax 30x32x0,15mkm и автоматической программой обработки хроматографиических данных Winpeak фирмы Bruker-Franzen Analitik SCPA Winpeak (Германия) по методу Фолча; 11 – аминокислотный анализ гидролизатов мышечной ткани – по стандартному методу на аминокислотном анализаторе PMA GmbH Abacus; 12 – органолептическую оценку и характеристику вкусо-ароматического комплекса – при помощи мультисенсорного анализатора VOCmeter и субъективного сенсорного анализа – по 5-бальной шкале в соответствии с

ГОСТ 8756.1-79; 13 – гистологическое исследование мышечной ткани – по ГОСТ Р 51604-2000; 14 – диализ мясного сырья – по методике ВНИИМП, 15 – суммарную концентрацию пептидов – по методике Бредфорда; молекулярно-массовый состав белков и полипептидов – медодом SDS электрофореза; 16 – хроматомасспектрометрию образцов мышечной ткани – по ГОСТ 53138-2008; 17 – оценку динамики изменения массы – по общепринятой методике; 18 – оценку неврологического статуса – по методу оценки неврологического дефицита по McGrow в модификации А. Е. Кульчикова, методу регистрации мышечного тонуса по Буреш Я.; 19 – исследование ориентировочно-исследовательского поведения – по методике «открытое поле»; 20 – оценку когнитивных функций в установке условного рефлекса пассивного избегания в темной и светлой камере по методу Т.А. Ворониной; 21 – уровень тревожности – в тесте «приподнятый крестообразный лабиринт» по общепринятой методике; 22 – гистологическое исследование мозга лабораторных животных – по общепринятой методике; 23 – анализ гистологических препаратов и их фотографирование- на световом микроскопе «AxioImager A1» (Carl Zeiss, Германия) с помощью подключенной видеокамеры «AxioCam MRc5»; 24 – обработку изображений и проведение морфометрических исследований в соответствии с принципами системного количественного анализа - с применением компьютерной системы анализа изображений AxioVision 4.7.1.0, адаптированной для гистологических исследований; 25 – статистическую обработку – с использованием программы Biostat 2007, с вычислением средних арифметических значений и их доверительных интервалов при $p<0,05$; 26 – острую и хроническую токсичность – по общепринятой методике; 27 – интегральный показатель хронической интоксикации - по формуле ИПХИ=($M_{органа}/M_{тела\ жив\text{-}го}$)*100%; 28 – биохимические исследования крови лабораторных животных – по общепринятой методике на автоматическом анализаторе «MARS» (Швеция); 29 – микробиологические показатели – по ГОСТ 30425-97; 30 – показатели безопасности – по ГОСТ Р 51301-99, ГОСТ 26930-86, МУК 4.1.1472-03.

Обработку экспериментальных данных осуществляли с помощью методов математической статистики. Повторность методов - трехкратная.

ОСНОВНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Приведены результаты исследований мышечной ткани, полученной от свиней, у которых моделировали геморрагический инсульт.

Для получения сырья, были использованы помесные свиньи в возрасте 10-11 месяцев, с живой массой в опытной группе (в которой моделировался инсульт) - 123,8±9,5 кг, и в контрольной - 118,5±9,9 кг

(табл. 1). Из таблицы 1 видно, что показатели живой массы и толщины шпика у опытных животных, через 2 месяца после моделирования интрацеребральной гематомы, имеют большее значение, чем у контрольных, что связано с меньшей подвижностью постинсультных свиней, хотя различия недостоверны.

Таблица 1

Мясная продуктивность свиней

Показатели	Группа	
	Опытные, n=16	Контрольные, n=10
Масса полутуш (парн.), кг	49,09±3,1	47,25±3,4
Масса полутуш (охлажд.), кг	48,83±1,19	47,08±2,4
Потери при охлаждении, %	**0,6±0,06***	**0,8±0,03**
Толщина шпика, см.	**3,37±0,73***	**2,8±0,61**
Выход мяса на кости, кг	90,81±3,45	89,94±2,8

* - достоверно по отношению к контрольным, $p<0,05$

Проведена комплексная оценка полученного мясного сырья, изучен химический состав, биохимические, физико-химические, функционально-технические, органолептические и гистологические показатели печени и мяса опытной и контрольной свинины. Нами были исследованы мышечные ткани шейного отруба, длиннейшая мышца спины, а также печень контрольных и опытных животных.

Результаты исследования общего химического состава и некоторых функционально-технологических свойств мяса и печени свиней контрольной и опытной групп показали некоторое увеличение концентрации белка в опытных образцах, при значительных потерях при варке, несмотря на то, что эти показатели недостоверны (табл. 2). Показатели ВСС контрольных и опытных образцах мяса и печени свиней различаются незначительно.

Таблица 2

Химический состав и некоторые функционально-технологические характеристики мясного сырья и печени постинсультных и контрольных свиней (n= 10)

	мясо		печень	
%	опыт	контроль	опыт	контроль
влага	60,5±0,3	62,5±0,4	71,7±0,3	75,1±0,4
жир	22,2±0,2	20,8±0,1	3,2±0,1	3,5±0,2
белок	16,2±0,2	15,6±0,1	23,9±0,1	20,4±0,1
зола	1,1±0,0	1,1±0,1	1,1±0,1	1,0±0,0
потери при варке, %	36,4±2,1	34,0±1,4	43,2±1,7	35,8±1,8
ВСС, %	58,56±1,5	59,52±1,8	67,46±2,2	65,89±1,9

Исследование минерального состава показало, что содержание натрия и кальция в печени и мышечных тканях изменяется незначительно, содержание калия в опытных образцах уменьшается на

19,3% в мясе и на 46% в печени, содержание магния и железа в опытных образцах свинины - увеличивается на 8,2% и 7,2%, соответственно.

Количество этих элементов в опытных образцах печеночной ткани существенно ниже, чем в контрольных, что указывает на изменения в паренхиматозных тканях свиней, связанные с моделированием интрацеребральной посттравматической гематомы.

Сравнение результатов аминокислотного состава контрольных и опытных образцов мяса и печени показало, что суммарная концентрация аминокислот в гидролизатах исследуемых образцов мышечной ткани различается незначительно - она на 2,56 % больше в опытных образцах по сравнению с контрольными (рис. 2). Однако, из 16 определяемых в гидролизатах аминокислот, концентрации 8 из них существенно увеличиваются в опытных образцах (от 25 до 53 %).

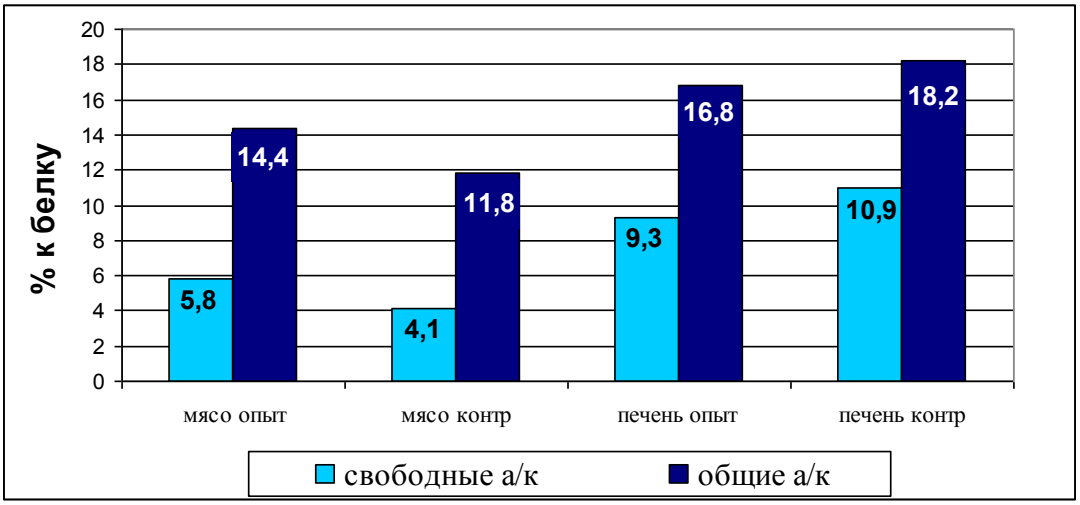


Рис. 2. Соотношение общих и свободных аминокислот в опытных и контрольных образцах мясного сырья и печени

Концентрации некоторых общих аминокислот (аспарагиновая кислота, треонин, серин, тирозин) в опытных образцах, по сравнению с контрольными, увеличиваются от фоновых (0,02 – 0,05мг%) до вполне определяемых (0,13 – 0,22мг%), что обусловлено биосинтезом некоторых мышечных белков в ответ на метаболические изменения в организме опытных животных. Показано, что посттравматический синдром после перенесенного геморрагического инсульта, не оказывает существенного влияния на аминокислотный состав белков печени животных (рис. 2).

Результаты исследования свободных аминокислот показали, что в образцах мышечной ткани опытных животных происходит четкое изменение количественного содержания свободных аминокислот по сравнению с контролем: из 17 определяемых белковых и небелковых аминокислот (глицин, глутаматовая и др.) концентрации 10 из них возрастают (на 40% и более), а содержание 3-х (аспаргиновая, глутаминовая, аргининовая) – уменьшается (от 40% до 2 – 7 раз).

Увеличение уровня некоторых нейромедиаторных кислот (глицина, треонина), а также серина и валина, указывает на восстановительные

процессы в очаге инсульта, в то время как уменьшение уровня свободной глутаминовой кислоты – о нарушениях в системе передачи нервных импульсов.

Из 20 определяемых свободных аминокислот в печени концентрации 10 из них в опытных образцах уменьшаются до 26 – 58%, а содержание н-цистина увеличивается в несколько раз, от 0,03 до 0,87 мг/%.

Т.о. полученные данные свидетельствуют о том, что в ответ на моделирование инсульта происходит изменение белково-пептидного состава мясного сырья.

Данные жирнокислотного состава контрольных и опытных образцов мышечной ткани (шейный отруб) показали более чем 20%-й рост содержания некоторых жирных кислот в постинсультном мясе (рис.3).

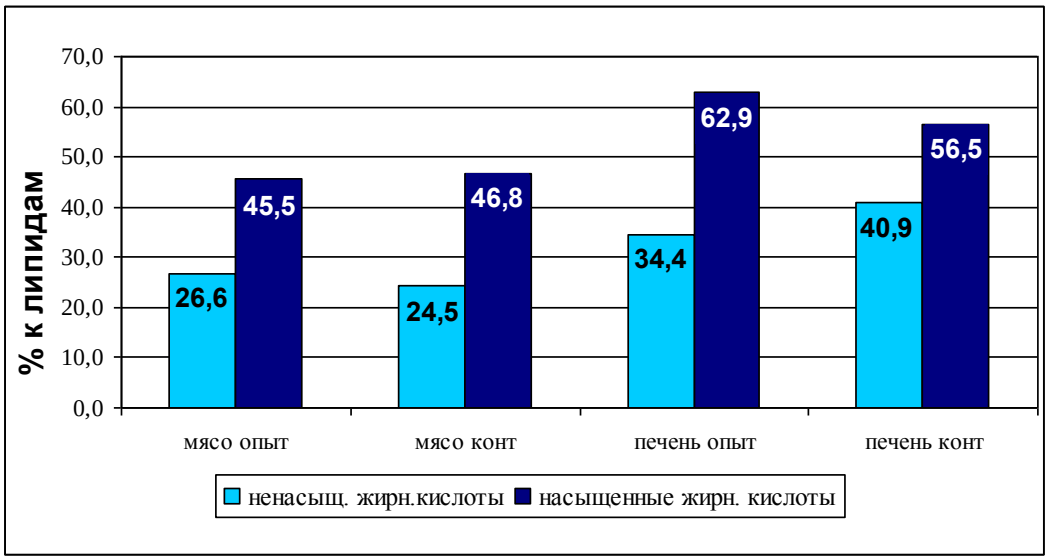


Рис. 3. Соотношение насыщенных и ненасыщенных жирных кислот в опытных и контрольных образцах мяса и печени

Соотношение ω6/ω3, рассчитанное по двум основным С18:2ω6 и С18:3ω3 жирным кислотам, равно: в опытных образцах 4,57, в контрольных – 5,75 соответственно.

Сравнение жирнокислотного состава образцов печени свиней-реконвалесцентов с контролем выявило увеличение количества большинства насыщенных (С18:0 – С24:0) и значительное уменьшение некоторых ненасыщенных жирных кислот (олеиновой, линолевой, эйкозапентаеновая). Это связано, прежде всего, с процессом липогенеза в печени, который индуцирует посттравматический синдром, а также окислением некоторых непредельных жирных кислот, что характерно при многих патологических состояниях организма.

Органолептические исследования показали преимущество опытных образцов мяса и печени перед контрольными по цвету, общей предпочтительности.

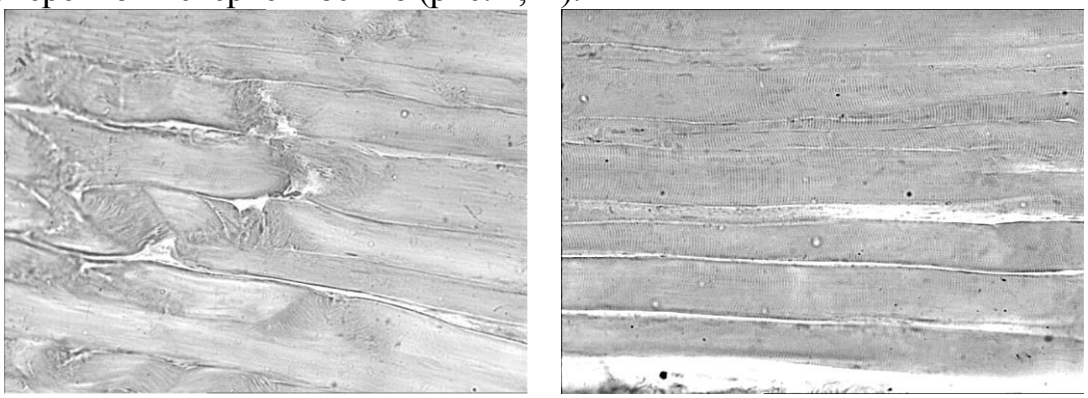
«Визуальные отпечатки» показаний сенсоров MOS_1 – MOS_4 и Q_1 – Q_8, полученные при мультисенсорном анализе контрольных и опытных образцов мяса и печени практически не отличаются друг от друга, следовательно, можно предположить, что качественный состав компонентов анализируемого газа идентичен (табл. 3).

Таблица 3

Площади «визуальных отпечатков» показаний сенсоров, полученные при мультисенсорном анализе образцов

Наименование образца	Показатели сенсоров				Площадь $S_{во}$ *10^7 (усл. ед.)
	MOS1	MOS2	MOS3	MOS4	
Мясо опыт	24225,79	10244,34	10675,73	12924,56	40,43
Мясо контроль	23606,9	10423,54	10056,85	12237,73	38,59
Печень опыт	20139,33	10625,18	11677,44	12230	36,36
Печень контроль	17570,76	9259,11	11219,63	10528,03	28,48

При микроструктурном исследовании мышц контрольных (рис.4, Б) и опытных образцов установлено, что структура опытного образца более рыхлая, с высокой степенью набухания волокон, также отмечаются отдельные участки волокон, с базофильной окраской, с широкой четкой поперечной исчерченностью (рис. 4, А).



А **Б**

Рис. 4. Микроструктура мышечной ткани свиней, продольный срез:

А – Мышечная ткань свиней- реконвалесцентов (Об. 20х);

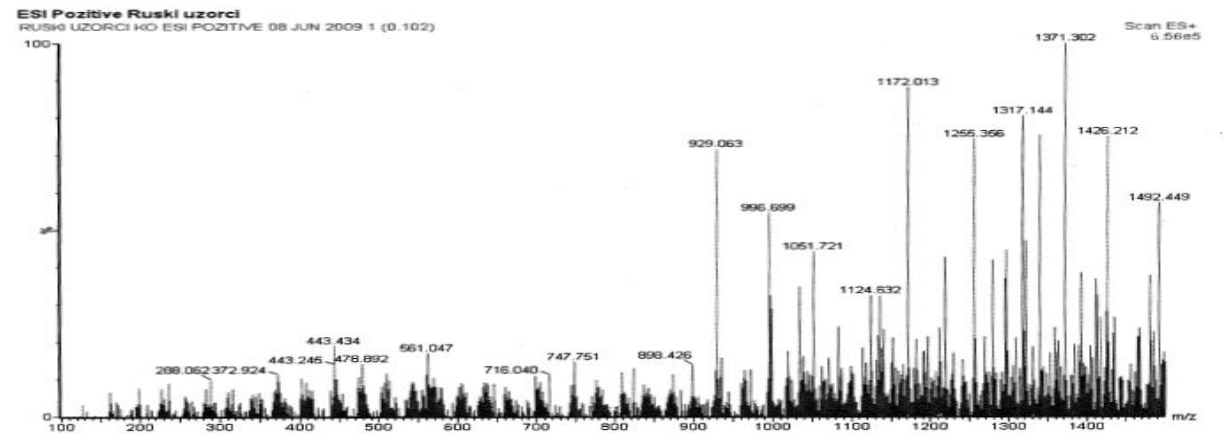
Б – Контрольный образец мышечной ткани (Об. 20х).

Проведено выделение активных низкомолекулярных фракций и их идентификация. Предварительное исследование экстрактов мышечной ткани показало увеличение водо- и солерастворимых белков в опытных образцах свинины в 0,1 и 0,4 раза по сравнению с контрольными.

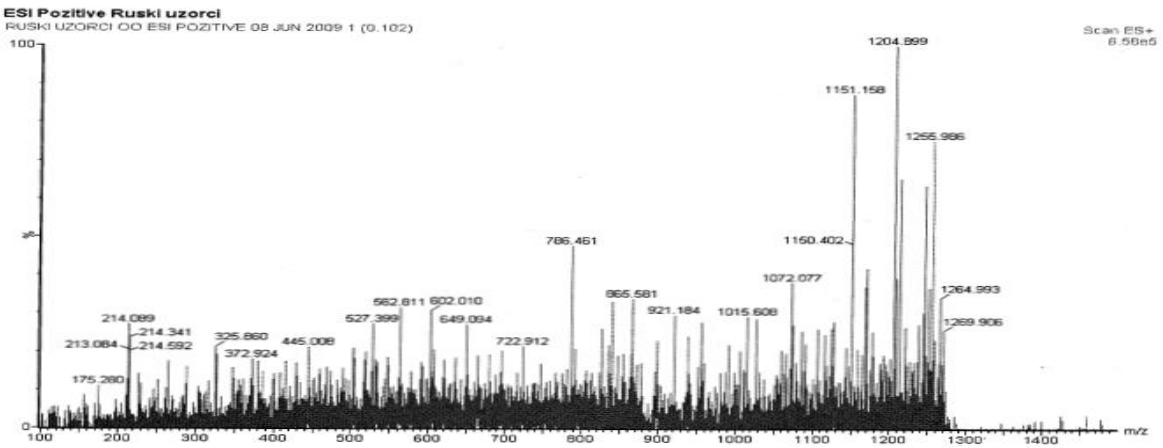
Для выделения и изучения низкомолекулярных пептидных фракций, обладающих противоинсультным действием, было проведено электрофоретическое фракционирование белков опытных и контрольных образцов мясного сырья, которое показало качественные и количественные различия в пептидном составе контрольных и опытных образцов.

В диализате опытного образца было обнаружено 11 полос в интервале молекулярных масс 2600 – 600 Da, тогда как в контроле 9 полос соответственно, и 7 полос с молекулярными массами < 600 Da, в контроле 4 полосы. Это свидетельствует о том, что моделирование геморрагического инсульта инициирует у выживших подопытных животных образование новых низкомолекулярных пептидов с молекулярными массами от 310 до 2600 Da, которые влияют на ингибирование нейродегенеративных процессов и обладают нейропротекторным действием. Более ранними исследованиями было доказано, что в мышечной ткани постинсультных свиней вырабатываются полипептиды аналогичные тем, которые содержатся в фармакологических органопрепаратах: «Церебрал», «Церебролизин», «Церебролизат», выработанных из головного мозга свиней и КРС.

Анализ результатов экстрактов мышечной ткани подтверждает результаты исследования молекулярно-массового состава мышечной ткани постинсультных и контрольных свиней (рис. 5).



А



Б

Рис. 5. Результаты хромато-масспектрометрического исследования контрольных (А) и опытных (Б) образцов мышечной ткани

На представленных диаграммах видно, что в опытных образцах, в отличие от контрольных (рис.5,А), преобладают низкомолекулярные фракции с молекулярной массой от 175 до 1015 Da, наибольшее количество белков было отмечено в интервале 214-786 Da (рис.5,Б).

С учетом результатов исследований был разработан ингредиентный состав модельного готового продукта (табл. 4), и технологическая схема (рис. 6) производства паштетов для диетического и профилактического питания.

Таблица 4

Ингредиентный состав опытных образцов готового мясного продукта

Наименование	Ингридиенты
Паштет из свинины	Свинина жилованная с массовой долей жировой ткани не более 30%, бульон, крахмал картофельный, соль поваренная.
Паштет из свинины с печенью	Свинина жилованная с массовой долей жировой ткани не более 30%, печень свиная, бульон, крахмал картофельный, соль поваренная

Рис. 6. Технологическая схема производства пюреобразных паштетов

Результаты физико-химических исследований готовых продуктов, представленные в табл. 5, показали увеличение содержание солерастворимых белков на 1,25%, жира на 1,1% в опытных образцах паштета.

Проведенное сравнительное изучение биохимических характеристик паштетов показало, что, несмотря на общее уменьшение количества общих и свободных аминокислот (табл. 5), наблюдалось достоверное увеличение доли некоторых свободных аминокислот (с 0,03 - 0,05мг% до 0,10 – 0,27мг%) в опытных образцах готового продукта, что косвенно подтверждается и результатами мультисенсорного анализа и электрофореза мышечной ткани свиней, успешно перенесших инсульт.

Таблица 5

Пищевая и биологическая ценность образцов паштета

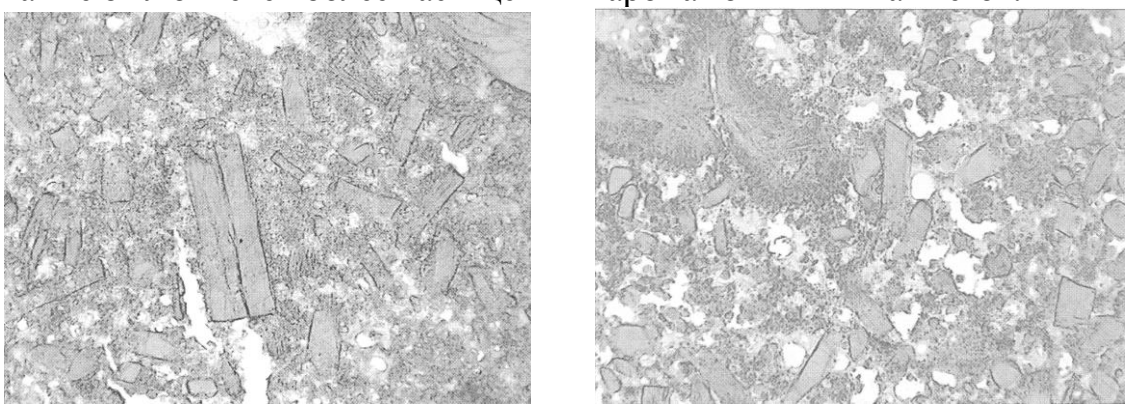
Наименование	опыт	контроль
Влага, %	63,9±0,2	64,7±0,3
Жир, %	19,3±0,1	17,1±0,2
Белок, %	**11,8±0,1**	**11,3±0,0**
Солерастворимые белки, %	**5,1±0,1**	**4,0±0,2**
Водорастворимые белки, %	3,1±0,0	3,8±0,1
Общие аминокислоты, %	11,7	14
Свободные аминокислоты, %	4,44	6,03
Насыщенные жирные кислоты, %	41,33	63,96
Ненасыщенные жирные кислоты, %	**38,95**	**22,02**
Общая переваримость, мг тирозина/г белка	9,18± 0,45	9,98±0,30

Жирнокислотный анализ образцов готового продукта показал уменьшение насыщенных жирных кислот (почти вдвое) в опытных образцах паштета (табл. 5), также отмечено увеличение количества ненасыщенных жирных кислот по сравнению с контрольными образцами готового продукта.

При микроструктурном исследовании опытных и контрольных образцов паштета (рис. 7,А, Б) было установлено, что образцы паштета, выработанные из мясного сырья опытной группы, характеризуются более высокой степенью измельчения мышечной ткани и большей компактностью фарша.

Эти функционально-технологические особенности мышечной ткани, полученной от свиней, перенесших геморрагический инсульт, способствуют большей степени измельчения, хорошей взаимосвязи структурных элементов фарша в образцах опытной группы, образованию существенно большего количества мелкозернистой белковой массы, которая формирует более плотный белковый каркас после термической обработки, что обусловливает более плотную структуру паштета (рис.7. А).

Сравнительные результаты органолептической оценки опытного и контрольного образцов паштетов после выработки и в процессе хранения методами объективного (мультисенсорный анализатор VOCmeter) и субъективного сенсорного анализа сведены в таблицу 6. Дегустаторами также был отмечен более насыщенный аромат опытных паштетов.



А **Б**

Рис. 7. Микроструктура мышечной ткани и готового продукта:
А − опытный образец паштета, Б − контрольный образец паштета (об.10х).

Как показано на табл. 6, площадь «визуального отпечатка» $S_{во}$ опытных образцов паштетов, как после выработки, так и в процессе хранения, значительно больше, чем контрольных, что свидетельствует о большем количестве ароматических летучих компонентов.

При анализе показаний сенсоров MOS_1 - MOS_4, было отмечено, некоторое уменьшение в опытных образцах показателей MOS_1 и MOS_4, (в контрольных - только MOS_1) на 2-е и 4-е сутки хранения при температуре 25±2ºС. Это свидетельствует о незначительном накоплении в образцах веществ, формирующих кислый и затхлый запахи.

Примерно такая же тенденция (увеличение главным образом сенсоров MOS_1 и MOS_4 и незначительное увеличение сенсоров MOS_2 и MOS_3) прослеживалась при исследовании образцов готового продукта после года хранения. Это указывает на накопление в процессе длительного хранения органических веществ, участвующих в окислительно-восстановительных процессах (кетонов, альдегидов, кислот и др.) и незначительно аммиака и водорода, которые образуются при распаде пептидов и аминокислот на стадии гнилостной порчи мяса (MOS_2), а также аминогрупп неароматических кислот (MOS_3).

Следует отметить, что согласно данным мультисенсорного анализа с увеличением срока хранения органолептические характеристики контрольного и опытного образцов нивелируются. Возможно, это свидетельствует о снижении специфической активности паштетов.

Определение промышленной безопасности после выработки и через год хранения показало, что мезофильные аэробные, факультативно анаэробные, а также мезофильные анаэробные микрооганизмы в продукте не обнаружены. Содержание токсичных элементов таких как:

Таблица 6

Результаты органолептической оценки паштетов

	Показания сенсоров VOCmeter				$S_{во}$ (*10^7 усл.ед.)	Мультисенсорный анализ аромата
	MOS1	MOS2	MOS3	MOS4		
После выработки						
Контроль	32892,75	14786,31	11057,10	18744,1	73,7	
Опыт	44526,00	17942,40	12419,96	25406,60	123,4	
На 2- е сутки						
Контроль	30132,46	16742,98	16192,31	19892,39	84,86	
Опыт	37627,36	18955,77	15746,53	24282,14	115,39	
На 4- е сутки						
Контроль	33659,68	17240,83	16152,28	21693,78	96,97	
Опыт	57896,21	24740,88	17224,69	36589,05	230,36	
После года хранения						
Контроль	85426,69	31321,59	18228,39	46517,19	403,42	
Опыт	94618,24	32878,05	18727,03	50123,8	470,39	

свинец, мышьяк, кадмий, ртуть в готовом продукте практически не обнаруживаются, концентрация свинца и мышьяка на порядок, а кадмия и ртути соответственно, в 5 раз ниже допустимых уровней.

Полученные данные могут косвенно свидетельствовать о необходимости использования паштетов со сроком годности не более 6 месяцев, при сроке хранения 12 месяцев.

Изменение цветовых характеристик паштетов после хранения в открытом виде в течение 24-х часов представлено в табл. 7. Результаты исследований цветовых характеристик позволили выявить различия в значении показателей светлоты L и желтизны a*.

Таблица 7

Цветовые характеристики паштета

Цветовые координаты, %	Опытные образцы		Контрольные образцы	
	0	через 24 ч.	0	через 24 ч.
L (светлота)	67,09	67,37	67,23	68,22
a* (краснота)	5,21	3,08	2,20	1,09
b* (желтизна)	17,45	17,44	15,74	16,07
S (насыщенность)	18,21	17,72	15,91	16,13
H (цветовой фон)	73,39	79,99	82,06	86,10
Координаты цветности: x	0,364	0,359	0,354	0,352
y	0,366	0,369	0,366	0,367

В ходе исследований выявлено, что после выработки в опытных образцах показатель красноты (a*) значительно выше по сравнению с контрольными образцами паштета, а показатель светлоты (L), напротив, ниже; при хранении в открытом виде, в опытных образцах повышается только показатель L и, соответственно, образцы приобретают более светлый и менее красный цвет. В контрольных образцах повышается показатель L и b*- соответственно, образцы приобретают более светлый, желтоватый цвет. Отношение хроматических координат, a*/b* уменьшаются при хранении у опытных образцов на 0,11 и у контрольных на 0,07%.

На основании этого можно утверждать, что снижение общей доли красных пигментов в мясной системе опытного продукта при хранении в открытом виде в течение 24-х часов происходит менее интенсивно, чем в контрольном паштете.

В ряде экспериментов, осуществлявшихся в виварии ВНИИМПа, были исследованы токсичность в остром и хроническом опытах, терапевтический эффект, его сохранность при термообработке мясного сырья. Кроме того, проводились сравнительные исследования антиинсультных свойств мяса, диализатов мышечных тканей постинсультных свиней, одного из современных отечественных препаратов «Нооглютил», а также

нейропротектерного средства «Церебрал» в остром и хроническом экспериментах.

Возможность развития токсических эффектов при применении паштета из мяса и печени исследовали на здоровых беспородных крысах-самцах с начальной массой 93,3±2,4 гр. в течение 32 суток (хроническая токсичность). Результаты эксперимента позволяют сделать заключение об ускорении процессов катаболизма белков у животных при потреблении ими паштета на основе мяса и печени свиней, перенёсших инсульт. У животных, потреблявших опытный паштет, происходит стимуляция неспецифического иммунитета компонентами продукта, без токсического действия.

Важной частью наших исследований были работы с лабораторными животными по изучению нейропротекторного эффекта свинины опытных образцов в остром и хроническом экспериментах.

Во всех сериях экспериментов крысам проводили моделирование интрацеребральной гематомы (геморрагический инсульт (ГИ)). Острый эксперимент завершали на 17-е сутки, хронический – на 220 сутки, затем проводили забой и отбор мозга на гистологические исследования.

В первой серии экспериментов было проведено исследование по выявлению наличия нейропротекторных свойств мясного сырья, полученного от свиней-реконвалесцентов, исследован терапевтический эффект и его сохранность при термообработке опытных образцов свинины.

Во второй серии экспериментов было проведено сравнительное исследование выделенных низкомолекулярных фракций и пилотного нейропротекторного средства «Церебрал». Фракции представляли собой диализаты с пептидным материалом молекулярных масс менее 2600 Da, выделенные из мышечной ткани интактных и постинсультных свиней.

Учитывая особенности состояния пациентов в остром периоде моделирования инсульта (часто встречаемое развитие нарушений памяти, изменение психоэмоционального состояния и различные психопатологические ситуации, риск развития повторного инсульта), существующие современные требования, предъявляемые к мультисенсорным исследованиям, проводимым при изучении действия средств профилактического, лечебного и восстановительного характера, а также с целью оценки отдаленных эффектов испытываемых терапевтических средств, возникла необходимость проведения хронических экспериментов на животных.

3-я серия экспериментов была направлена на изучение антиинсультных свойств опытных образцов мясного сырья, в сравнении с терапевтическими препаратами, на отдаленных периодах реабилитации. Крысам, у которых моделировался инсульт, в начальном периоде развития заболевания в рацион вводили опытное мясо, современный отечественный препарат «Ноотропил», нейротрофическое средство «Церебрал». По ис-

течении 6 мес. проводили неврологические тесты на процесс обучения и амнезию, а также уровень тревожности животных.

Ежедневное взвешивание (рис. 8) показало, что животные опытных групп, в рацион которых вводили как сырое, так и вареное мясо свиней-реконвалесцентов, достигли лучших результатов и максимально приблизились к показателям интактной группы животных (VI группа). Животные опытной группы, в рацион которых вводили мясо интактных свиней (IV группа), показали худшие результаты и оказались наиболее близкими к животным с геморрагическим инсультом (V группа).

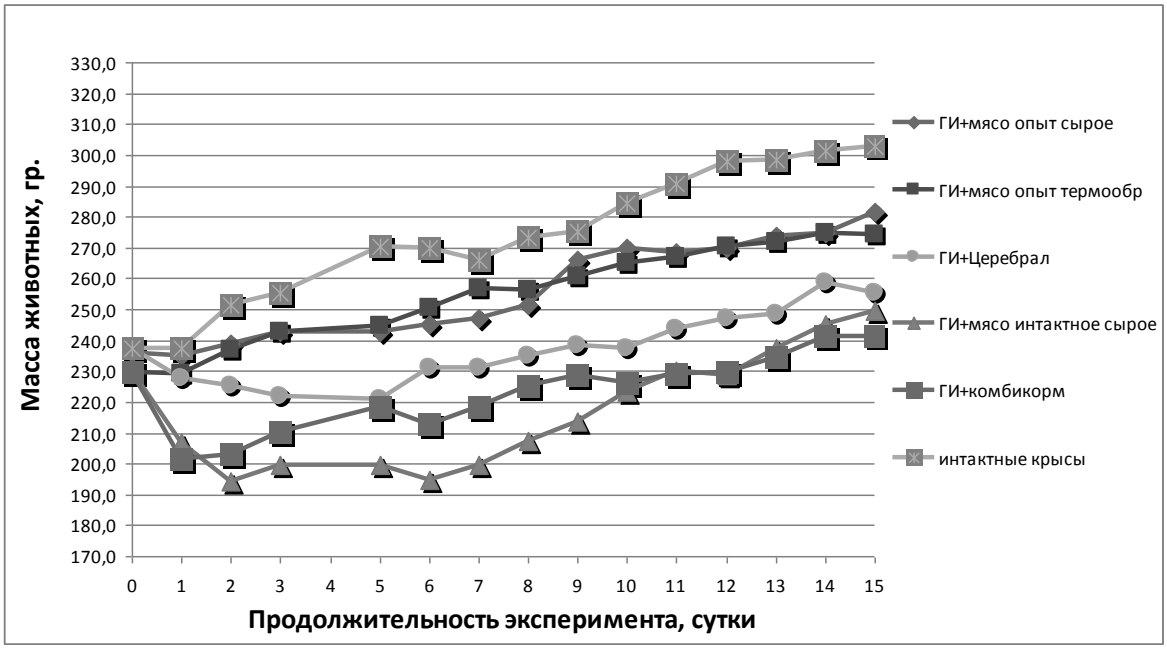


Рис. 8. Показатели изменения веса лабораторных животных в остром эксперименте,n=52

Результатами I серии исследования установлено, что мясо свиней-реконвалесцентов как сырое, так и после термообработки вызывает значительное уменьшение выраженности постинсультных нарушений. Испытуемые образцы, как и препарат «Церебрал», улучшают показатели неврологического дефицита по шкале McGrow, повышают мышечный тонус и улучшают координацию движений на 6-е сутки после инсульта.

В дальнейших исследованиях (2, 3 серии экспериментов) была выявлена схожая тенденция изменения веса животных: максимальные результаты достигли животные, которым в рацион вводили фракции и мясо свиней-реконвалесцентов, худшие результаты показали животные с ГИ.

При анализе неврологического статуса во 2-ой серии экспериментов (рис. 9), максимальное количество животных с тяжелыми неврологическими нарушениями наблюдалось в опытной группе, крысам которой вводились контрольные фракции, на 2-е сутки и вплоть до завершения эксперимента, на 7-е сутки тяжелые симптомы отмечались только в контрольной группе животных с ГИ.

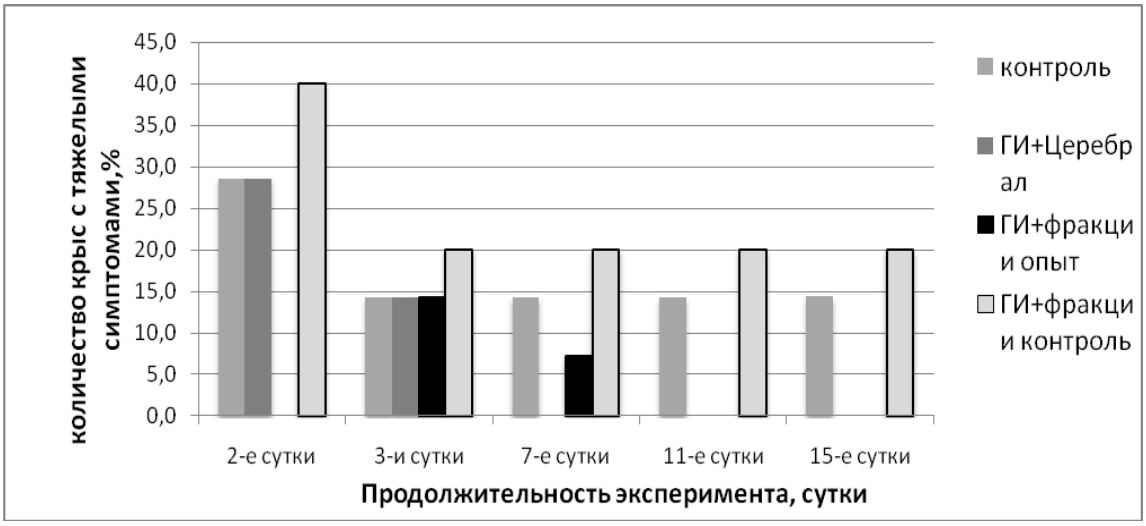


Рис. 9. Процентное соотношение животных с тяжелыми проявлениями неврологических нарушений, n=30

В группах крыс, которым вводили опытные фракции и «Церебрал» было отмечено максимальное количество животных, восстановившихся после операции.

При анализе данных ориентировочно-исследовательского поведения крыс показан положительный противоинсультный эффект у животных, которым вводили фракции опытных образцов мясного сырья.

Результаты 2-ой серии указывают на то, что опытные фракции, при сравнении с препаратом «Церебрал» и контрольными фракциями, дают больший терапевтический эффект, чем диализаты, полученные от интактной свинины, но меньший, чем препарат «Церебрал» и мясо опытных свиней. Положительная тенденция к выздоровлению при этом четко прослеживается.

При исследовании памяти и обучения на установке УРПИ в 3-ей серии было показано, что памятный след болевого раздражения полностью сохранялся у 70% крыс, которым в остром периоде развития патологии вводили «Церебрал», через 24 часа после выработки отрицательного опыта при ударе током. У животных с ГИ рефлекс был нарушен – количество животных, не зашедших в камеру, составляло всего 30%, соответственно. У ложнооперированных крыс и животных, которым вводили «Ноотропил», рефлекс УРПИ был нарушен, и количество животных, не зашедших в камеру, составляло 60 и 77% соответственно, дальнейшее наблюдение выявило дополнительное снижение числа животных, не зашедших в темную камеру, в сравнении с данными 1-х суток после обучения (рис. 10). Животные, потреблявшие опытную свинину на ранних стадиях реабилитации, помнили об электрическом стимуле, нанесенном в темной камере, на протяжении всего эксперимента.

Анализируя полученные данные неврологического теста УРПИ, можно сделать вывод о том, что животные, в рацион которых на ранних этапах заболевания вводили мясо постинсультных свиней, в отдаленном периоде реабилитации демонстрируют лучшие результаты.

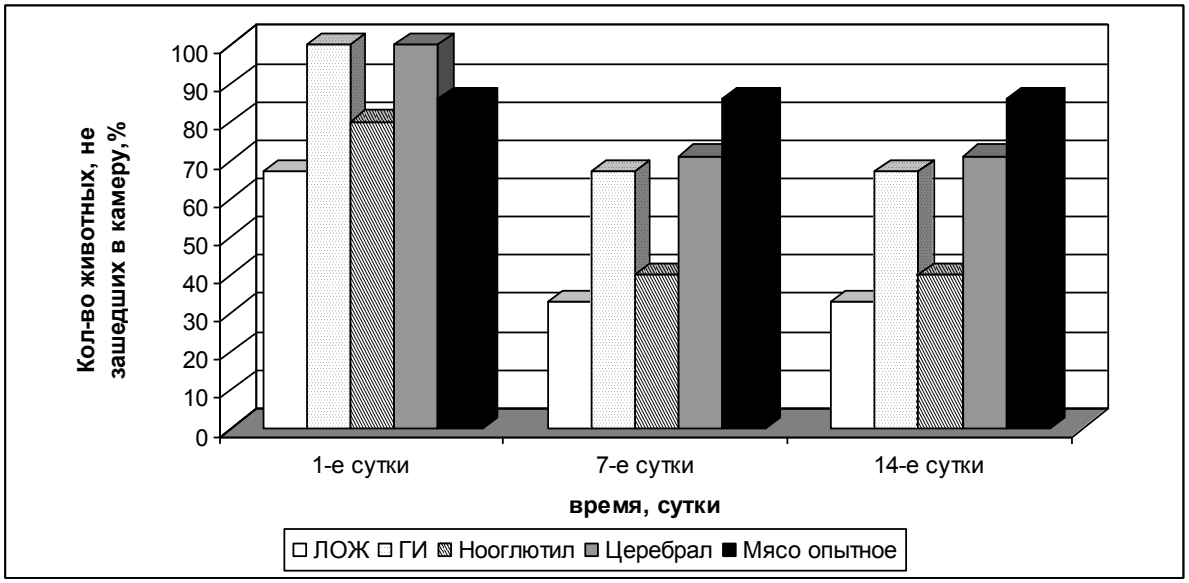


Рис. 10. Влияние средства «Церебрал», препарата «Нооглютил» и мяса свиней-реконвалесцентов на воспроизведение рефлекса УРПИ у крыс на отдаленных сроках реабилитации, n=27

При анализе показателей теста «Приподнятый крестообразный лабиринт» было установлено, что реакция тревоги и фобический компонент эмоционального статуса менее выражены у крыс, леченных «Нооглютилом» и «Церебралом», по сравнению с животными, потреблявшими мясо постинсультных свиней.

Полученные в процессе выполнения хронического экспериментального исследования результаты свидетельствуют о том, что в начальном периоде острого аутогеморрагического инсульта нейропротектор «Церебрал» и мясной продукт от животных - реконвалесцентов продемонстрировали существенное превосходство над препаратом «Нооглютил» по ряду изучаемых нами параметров (выживаемость, восстановление неврологического статуса, характер, а также особенности морфологических изменений в мозге). В частности, через 7 мес. после завершения эксперимента было установлено, что в данном отдаленном периоде достигнутые терапевтические эффекты при использовании «Нооглютила», «Церебрала» и мясного продукта в значительной мере редуцируются.

Данные гистологических исследований головного мозга крыс (рис. 11, А, Б, В, Г) в остром эксперименте свидетельствуют о том, что нейропротекторные средства мяса опытных свиней и «Церебрала» действуют подобно. При этом их эффект проявляется в цитопротекторном действии, а именно предупреждении развития резко выраженных процессов отека и набухания тканей и защите нервных, а также глиальных клеток от действия факторов инсультной патологии.

В ходе гистологических исследований мозга лабораторных животных установлено, что у постинсультной свинины и «Церебрала», по сравнению с «Нооглютилом», обнаруживается амбивалентное

(биполушарное) влияние на нервные клетки больших полушарий головного мозга крыс, проявляющееся в большей защите нейронов и глиальных клеток в очаге инсульта.

Т.о. получены данные, свидетельствующие о положительном терапевтическом эффекте постинсультной свинины.

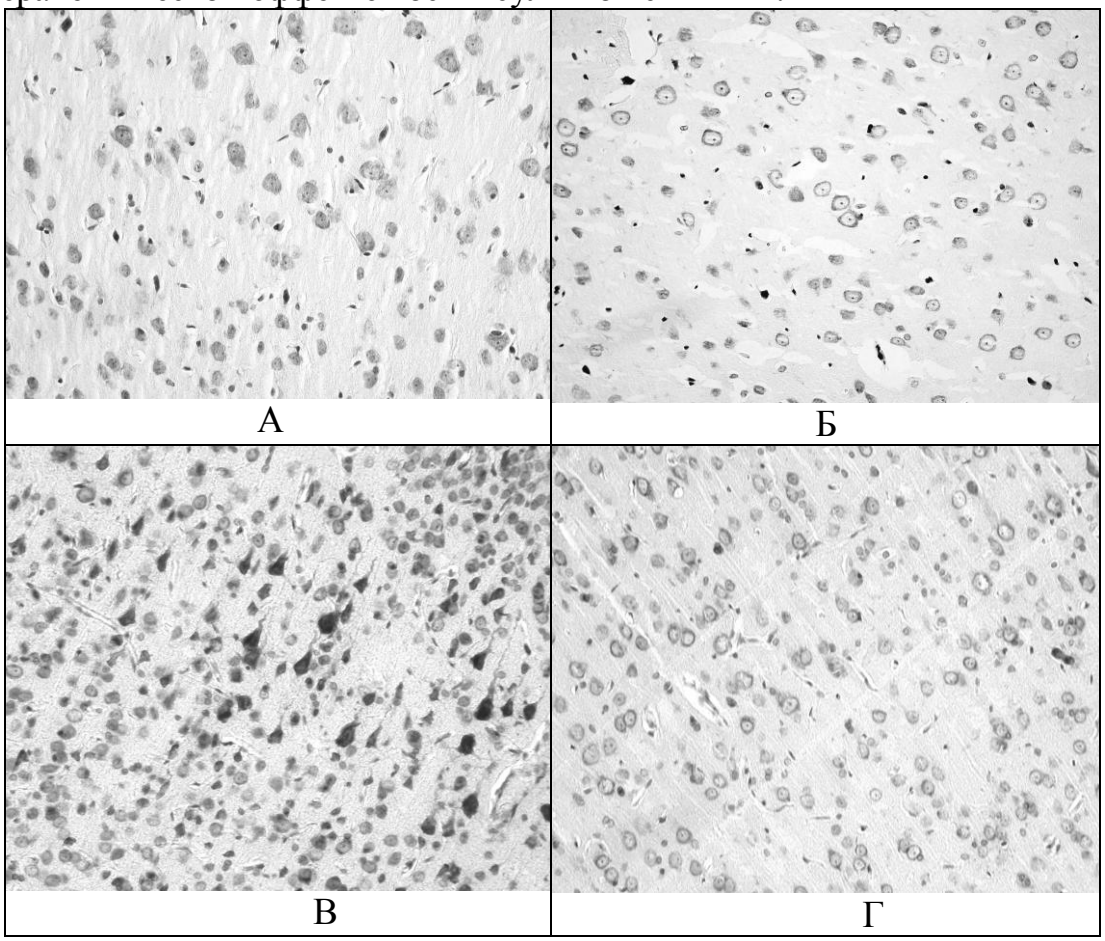


Рис. 11. Микрофотографии сенсомоторной области больших полушарий головного мозга крыс (Об 20х):

А – интактные (контрольные) крысы; Б – животные, леченные церебралом; В – крысы, получавшие интактную свинину; Г – животные, в рацион которых вводили постинсультную свинину.

Результаты хронического эксперимента указывают на то, что мясо свиней, восстановившихся после моделирования инсульта, лучше всего использовать для реабилитации пациентов с цереброваскулярными заболеваниями в комбинации с традиционными медикаментозными средствами.

Обнаруженный нами полифункциональный характер мясного сырья открывает значительные перспективы для его использования в области восстановительной неврологии с целью реабилитации нарушенных неврологических функций, позволяет решить ряд задач питания данной группы пациентов в клинических условиях, существенно меняет современные подходы к вопросам рационального питания инсультных пациентов не только в остром, но и в отдаленном периодах

заболевания, по-видимому, не только у пациентов с ЦВЗ, но и при многих других формах острых и хронических неврологических заболеваний.

На основании выполненных исследований разработаны нормативные документы: ТУ 956-00419779-10 «Свинина для диетического питания» и технологическая инструкция по подготовке и переработке свиней, ТУ 9214-003-00419779-10 «Полуфабрикаты мясные из свинины для диетического питания» и технологическая инструкция на их производство. Также разработан СТО «Свинина для диетического питания».

ВЫВОДЫ

1. Адаптирована методика воспроизведения острого аутогеморрагического инсульта на сельскохозяйственных животных-свиньях, с целью получения свинины, обладающей нейропротекторными свойствами.

2. На основании комплексных исследований установлена возможность прижизненной модификации мясного сырья путем направленного воздействия на животных. Определена пищевая ценность, проанализированы данные функционально – технологических свойств и особенностей структуры мышечной ткани мясного сырья, полученного от свиней, перенесших аутогеморрагический инсульт.

Выявлено, что в мышечной ткани опытных образцов, при меньшем содержании влаги, количество белка увеличивается не менее, чем на 2%, суммарная концентрация аминокислот в гидролизатах увеличивается не менее чем на 2,5 %, происходит достоверное изменение количественного содержания свободных аминокислот, таких как аспарагиновая кислота, треонин, серин, тирозин.

Установлено увеличение содержания ненасыщенных жирных кислот более чем на 20% в постинсультной свинине.

3. Из мясного сырья выделены активные низкомолекулярные фракции пептидов, проведена их идентификация.

Определено увеличение растворимой фракции белков в опытных образцах свинины, в частности, солерастворимых белков в 0,4 раза. Выявлено образование новых низкомолекулярных пептидов с молекулярными массами от 310 до 2600 Da в опытных образцах мясного сырья. Показано, что в опытных образцах преобладают белковые фракции с молекулярной массой в интервале от 175 до 1015 Da, наибольшее количество белков отмечено в диапазоне 214-786 Da.

В опытах на лабораторных животных подтвержден терапевтический эффект выделенных фракции.

4. Разработана рецептура модельного паштета, обеспечивающая сохранность антиинсультных свойств в готовом продукте.

5. Выполнена комплексная оценка разработанного паштета на основе мяса свиней, восстановившихся после моделирования у них геморрагического инсульта.

При физико-химическом исследовании получены результаты, идентичные с исследованиями мясного сырья, установлены лучшие функционально-технологические свойства опытных образцов готового продукта.

В результате исследования показателей качества выработанных готовых продуктов в процессе хранения установлен срок использования - не более 6 месяцев. Результаты исследований цветовых характеристик в процессе хранения показали менее интенсивное снижение общей доли красных пигментов в мясной системе опытного продукта.

Проведен хронический эксперимент на токсичность готового продукта, в результате которого выявлено, что компоненты опытного паштета обладают стимулирующим эффектом на неспецифический иммунитет, без токсического действия.

6. Анализ данных, полученных в опытах на лабораторных животных, дает возможность утверждать, что введенное в рацион мясо свиней-реконвалесцентов снижает смертность животных после инсульта на 2-е сутки, улучшает неврологический статус и ориентировочно-исследовательское поведение на 6-е сутки, устраняет постинсультные нарушения памяти и стрессоустойчивости в отдаленном периоде реабилитации**.**

В ходе клинических экспериментов на животных, был продемонстрирован положительный терапевтический эффект полученных диализатов мышечной ткани и обосновано нейропротекторное действие выделенных пептидных фракций.

7. На основе выполненных исследований разработаны нормативные документы: ТУ 9211-956-00419779-10 «Свинина для диетического питания» и технологическая инструкция по подготовке и переработке свиней, ТУ 9214-003-00419779-10 «Полуфабрикаты мясные из свинины для диетического питания» и технологическая инструкция на их производство. Подготовлен СТО 00419779-001-2010 «Свинина для диетического питания»

По материалам диссертации опубликованы следующие работы:

1. Чернуха И.М. Продукт питания для больных геморрагическим инсультом / И.М. Чернуха, А.Н. Макаренко, Л.В. Федулова, Н.С. Мотылина // Совершенствование технологий производства продуктов питания в свете государственной программы развития сельского хозяйства на 2008– 2012 гг. – 2008. – С. 57– 59.

2. Лисицын А.Б. Лечебно-восстановительное действие мясного продукта в остром периоде развития интрацеребрального геморрагического инсульта / А.Б. Лисицын, И.М. Чернуха, Н.С. Мотылина, А.Н. Макаренко, Л.В. Федулова // Вестник РАСХН. – 2009. – №1. – С.89– 91.

3. Чернуха И.М. Сравнительное изучение терапевтических эффектов мяса и мозга свиней при острых нарушениях мозгового кровоснабжения / И.М. Чернуха, Л.В. Федулова // Обеспечение продовольственной безопасности России через наукоемкие технологии переработки мясного сырья – М. 2009. – С. 220– 224
4. Федулова Л.В. Сравнительное изучение терапевтических эффектов мяса свиней и препарата Церебрал при острых нарушениях мозгового кровоснабжения / Л.В. Федулова // Обеспечение качества и безопасности продукции агропромышленного комплекса в современных социально – экономических условиях.: материалы конференции. – М. 2009. – С. 24– 25
5. Chernukha I.M. Pork - a supplementary aid in treatment after intracerebral hemorrhagic apoplectic shock / I.M. Chernuha, A.B. Lisitsyn, L.V. Fedulova, N.S. Motylina, A.N. Makarenko / 55-th ICoMST, August, 2009, Kopenhagen, Denmark. Proceedings, 2009. – PE9.27
6. Чернуха И.М. Изучение терапевтических свойств мясного сырья с заданными противоинсультными свойствами / И.М. Чернуха, А.Н. Макаренко, Л.В. Федулова // Принципы пищевой комбинаторики – основа моделирования поликомпонентных пищевых продуктов: сборник материалов – Углич, 2010. – С.300-303
7. Chernuha I.M. Modification of meat raw materials by manipulation with animals / I.M. Chernuha, L.V. Fedulova, N.S. Motylina, A.N. Makarenko, O.E. Usanova / 56th ICoMST, August, 2010, Jeju, Korea, B022. P. 72
8. Чернуха И.М. Свинина для снижения риска развития цереброваскулярной патологии / И.М. Чернуха, А.В. Устинова, Л.В. Федулова // Мясная индустрия. – 2011. - №4. – С.14-15.
Изобретения:
9. Лисицын А.Б., Чернуха И.М., Морозов С.Г., Макаренко А.Н., Федулова Л.В. Продукт диетического питания «Прометей», обладающий восстановительным нейрореабилитационным действием у пациентов отдаленном периоде перенесенных острых цереброваскулярных заболеваний и травматических повреждений центральной нервной системы. Патент РФ №2368383 от 27.09.2009.

Бум. тип Тираж 100 экз. Заказ №

ООО «Полиграф»
109316 Москва, ул. Талалихина, 26