

Автор ер.
Л 88

МИНИСТЕРСТВО ВЫСШЕГО И СРЕДНЕГО СПЕЦИАЛЬНОГО
ОБРАЗОВАНИЯ УССР

ОДЕССКИЙ ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЙ ИНСТИТУТ ПИЩЕВОЙ
ПРОМЫШЛЕННОСТИ им. М.В. ЛОМОНОСОВА

На правах рукописи

Лисогор Тамара Антоновна

БИОХИМИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ГРАНАТОВ РАЗНЫХ
РАЙОНОВ ПРОИЗРАСТАНИЯ И ИХ ПРОМЫШЛЕННОЕ
ИСПОЛЬЗОВАНИЕ

05.18.13 - технологии консервирования пищевых
продуктов

А в т о р е ф е р а т
диссертации на соискание ученой степени
кандидата технических наук

О д е с с а - 1973

МИНИСТЕРСТВО ВЫСШЕГО И СРЕДНЕГО СПЕЦИАЛЬНОГО
ОБРАЗОВАНИЯ УССР

ОДЕССКИЙ ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЙ ИНСТИТУТ ПИЩЕВОЙ
ПРОМЫШЛЕННОСТИ им. М.В. ЛОМОНОSOBA

На правах рукописи

Лысогор Тамара Антоновна

БИОХИМИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ГРАНАТОВ РАЗНЫХ
РАЙОНОВ ПРОИЗРАСТАНИЯ И ИХ ПРОМЫШЛЕННОЕ
ИСПОЛЬЗОВАНИЕ

05.18.13 - технология консервирования пищевых
продуктов

Переучет 1907

А в т о р е ф е р а т
диссертации на соискание ученой степени
кандидата технических наук

О д е с с а - 1973

v 012157

Одесский технологический
институт пищевой промыш-
ленности им. М.В. Ломоносова
Б И Б Л И О Т Е К А

Работа выполнена в Одесском технологическом институте пищевой промышленности имени М.В. Ломоносова (кафедра биохимии и микробиологии), на Курган-Тюбинском и Ферганском консервных заводах.

Научный руководитель – доктор технических наук,
профессор А.Т. Марх.

Официальные оппоненты: доктор технических наук
профессор Б.Л. Флауменбаум,
кандидат технических наук,
профессор В.В. Тихомиров

Ведущее предприятие – Государственный Никитский ботанический сад Всесоюзной Академии сельскохозяйственных наук имени В.И. Ленина.

Автореферат разослан "19" апреле 1973 г.

Защита диссертации состоится "25" мая 1973 г.
на заседании Совета Одесского технологического института пищевой промышленности имени М.В. Ломоносова, г. Одесса, ул. Свердлова, II2.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке института.

Отзыв на автореферат в двух экземплярах, заверенный печатью учреждения, просим направлять в Совет института по адресу: г. Одесса, 270039, ул. Свердлова, II2.

Ученый секретарь Совета

Л.А. Запорожец

Директивами XXIV съезда КПСС по пятилетнему плану развития народного хозяйства СССР на 1971–1975 годы предусматривается повышение качества, расширение ассортимента и улучшение питательной ценности и вкусовых достоинств продуктов питания.

Исходным этапом для осуществления этих задач является обстоятельная биохимическая характеристика сырья, на основе которой, с учетом характера его лабильных составных частей, разрабатывается комплекс технологических вопросов. Большое значение имеет содержание в плодовой ткани биологически активных веществ – микроэлементов, витаминов, полифенолов, обладающих Р-витаминной активностью. Фенольные соединения играют важную роль в образовании вкуса, аромата, внешнего вида консервов и обуславливают их пищевую ценность, но с другой стороны могут быть причиной нежелательных явлений, возникающих при переработке и хранении растительной пищи.

Окислительные превращения полифенолов, их комплексобразующие свойства являются одной из распространенных причин изменения натурального цвета плодов и овощей при консервировании. При окислении фенольных соединений образуются хиноны, которые обладают большой окисляющей способностью, причем хиноны одних фенольных веществ могут окислять другие фенольные соединения с меньшей величиной окислительно-восстановительного потенциала. Кроме того, хиноны весьма склонны к конденсации.

До настоящего времени не найдено эффективных средств регулирования ферментативных и химических превращений флавоноидов, которые бы позволили стабилизировать натуральную окраску плодов. При переработке сырья, содержащего красящие вещества – антоцианы, часто наблюдается либо обесцвечивание, либо побурение продукта. Характер и степень этих изменений зависят, в первую очередь, от особенностей химического состава сырья. Среди плодов богатых антоцианами гранаты занимают особое место, так как их красящие вещества в наибольшей степени подвергаются различным превращениям в про-

цессе получения и хранения сока. Он приобретает бурый цвет и теряет пищевую ценность.

Вопросам совершенствования технологии гранатового сока посвящены работы ряда советских и зарубежных авторов (Мурзаева А.М., 1948; Стребкова А.Л.; Нестеренко Г.А., 1949; Сапожникова Е.В., 1949; Самсонова А.Н.; Лукьянова Л.В., 1970; Абдуразакова С.Х.; Габбасова Л.Б., 1972; Бриан Р., 1963; Црнчевич В., 1956; Гугушевич М., 1957 и др.).

Вместе с тем имеется недостаточно сведений о химическом составе, биохимических и технологических свойствах гранатов, произрастающих в отдельных районах Средней Азии и на южном берегу Крыма. Мало данных о полифенольном комплексе плодов и об изменениях флавоноидов при переработке и хранении готовой продукции. Не имея ясной картины путей превращения отдельных фенольных веществ на различных этапах производства сока, нельзя регулировать эти процессы и обеспечить стабилизацию красящих веществ, следовательно нельзя усовершенствовать технологический процесс, чтобы получить продукт максимально приближающийся к свежеежатому соку.

В связи с этим мы поставили перед собой задачу усовершенствовать технологию гранатового сока на основе изучения химического состава гранатов разных сортов и районов выращивания, расшифровки полифенольного комплекса — наиболее важной составной части плодов, установления основных закономерностей превращения фенольных соединений и путей их регулирования.

Диссертация состоит из введения, обзора литературы, экспериментальной части (5 глав), выводов, списка использованной литературы, включающего 129 наименований на русском и 54 на иностранных языках, приложений. Работа представлена на 194 страницах машинописного текста, содержит 38 таблиц и 19 рисунков.

Экспериментальная часть

Организация работы и методы исследования

В соответствии с поставленными задачами, исследовали 16 сор-

тов гранатов из трех районов: южного берега Крыма, Вахшской долины Таджикской ССР, Ферганской долины Узбекской ССР.

Изучены факторы, влияющие на окраску сока — повышенные температуры (70–100°C) и продолжительность их воздействия (10–30 минут), условия хранения (2° и 20°C), отдельные химические компоненты сока (сахара, органические кислоты, аскорбиновая кислота, аминокислоты), соли металлов (железа, олова, меди, алюминия), экстрактивные вещества кожуры и перегородок, чистые препараты катехинов и рутина в присутствии солей железа и без них.

В образцах устанавливали качественный и количественный состав красящих веществ. На спектрофотометре снимали спектры в видимой и ультрафиолетовой области.

Из сортового сырья в лабораторных, а затем производственных условиях были выработаны соки. С целью осветления испытаны оклейка желатином и "мгновенный подогрев". Для сохранения соков использовали метод пастеризации и консервирование сорбиновой кислотой. Испытано действие глюкозооксидазы на окраску гранатового сока. Выработаны купажируемые соки из гранатового, виноградного и яблочного.

Сырье и соки исследовали по комплексу биохимических показателей. Сухие вещества, сахара, кислотность, пектиновые, азотистые вещества, зольность, витамины С, В₁, В₂ определяли общепринятыми методами. Общее содержание водорастворимых полифенолов — на СФ-4А при длине волны 280 нм с пересчетом на катехин чайного растения; антоцианы, катехины, лейкоантоцианы и флавонолы — по методике *Swein T.* и *Hillis W.E.* и изменениями, внесенными Вигоровым Л.И.; минеральный состав — методом спектрального анализа; активность окислительно-восстановительных ферментов — полифенолоксидазы, каталазы, аскорбинооксидазы, дегидрогеназы — в аппарате Варбурга. Общее содержание железа и его отдельные формы устанавливали фотометрическим методом в виде роданидного комплекса, а также по методике, применяемой для вин и сусел, без предварительного озоления. Комплексно связан-

ное железо определяли по методике Огородник С.Т. и Драновской Т.Д. (ВНИИ "Магарач"), основанной на выделении комплексного железа на анионообменных смолах.

Свободные аминокислоты, органические кислоты, сахара, фенолкарбоновые кислоты, антоцианы исследовали методом бумажной хроматографии.

Работа начата в 1966 году. Анализы проводили не менее, чем на трех партиях плодов технической зрелости в трех повторностях. Во всех наблюдениях получены хорошо воспроизводимые результаты. Приведенные в таблицах данные являются средними.

Химический состав гранатового сока.

Нами установлено, что гранаты разных районов выращивания характеризуются высоким содержанием сухих веществ от 14,9 до 18,0%. Более высокие значения относятся к сортам Кзыл-анор и Назык-кабух (Вахшская долина), Апшеронский розовый (Крым). В гранатах содержатся редуцирующие сахара, их количество изменяется по сортам от 10,61 до 13,23%. Методом хроматографии на бумаге с использованием разных систем растворителей установлено наличие глюкозы и фруктозы.

Титруемая кислотность в пересчете на лимонную кислоту колеблется от 1,46 до 2,76%. Хроматографический анализ показал, что органические кислоты представлены лимонной кислотой, винная, яблочная и янтарная обнаружены в виде следов.

Гранаты характеризуются низким содержанием пектиновых веществ (до 0,007%).

Исследованы витамины С, В₁, В₂ (табл. I). Количество аскорбиновой кислоты изменяется от 4,40 до 10,91 мг%. Накопление ее зависит от сортовых особенностей и района произрастания. В сорте Кзыл-анор из Вахшской долины витамина С больше по сравнению с одноименным из Ферганской долины, а Кай-

ачик-анор из южного берега Крыма и Ферганской долины имеет близкие значения. Изучение отдельных форм витамина С показывает, что в плодах преобладает свободная аскорбиновая кислота.

Содержание тиамин в свежестжатом соке невелико и колеблется от 0,004 до 0,036 мг%. В гранатах преобладают фосфорные эфиры тиамин, которые являются коферментом и лучше усваиваются организмом.

Количество рибофлавина изменяется по сортам от 0,032 до 0,27 мг%. Более высокий уровень (0,14-0,27 мг%) этого витамина отмечен у сортов Вахшской долины, ниже - у гранатов Ферганской долины и южного берега Крыма.

Содержание общего азота (n x 6,25) в исследованных сортах колеблется от 0,11 до 0,37%, аминокислотного - от 61,0 до 95,2 мг%. Более высокие значения этих показателей характерны для сортов южного берега Крыма. Идентифицированы и количественно определены свободные аминокислоты гранатов: цистеин, цистин, лизин, гистидин, аргинин, аспарагиновая кислота, серин, треонин, глутаминовая кислота, аланин, оксипролин, α-аминоасляная кислота, метионин, валин, фенилаланин, лейцин, глицин. В количественном отношении доминирующими являются: глутаминовая, аланин, гистидин, аргинин, аспарагиновая кислота. Несколько уступает им по содержанию метионин и валин. Постоянство соотношения содержания отдельных аминокислот можно рассматривать не как сортовой, а как видовой признак. Сумма свободных аминокислот в плодах южного берега Крыма несколько выше по сравнению с гранатами Средней Азии.

Установлены количества следующих минеральных элементов: магния, марганца, кремния, железа, алюминия, титана, меди, кальция. В плодах южного берега Крыма накапливается больше магния, железа, кальция; в гранатах Вахшской долины - марганца, алюминия, кремния. Такие различия по месту произрастания можно объяснить влиянием состава почв. Наблюдается прямое соответствие между накоплением марганца и витамина С, что согласуется с литературными данными для других видов растительного сырья.

Содержание биологически активных веществ в свежеежатом
гранатовом соке

Сорта Район произраста- ния	: Витамины, мг %			: Водорастворимые : полифенолы, : ноль, %	: Антоцианы, : мг %	: Катехины, : мг %
	: С	: В ₁	: В ₂			

Вахшская долина Таджикской ССР

Назык-кабух	8,35	0,014	0,14	0,43	480,0	-
Пейшпел	6,39	0,010	0,24	0,41	433,3	-
Нор-алма	6,25	0,017	0,26	0,48	566,7	-
Шах-нар	4,46	0,012	0,20	0,63	466,7	-
Мелес	7,34	0,014	0,27	0,38	600,0	-
Кзыл-анор	7,40	0,010	0,16	0,70	475,0	29,2

Южный берег Крыма

Кай-ачик-анор	5,98	0,024	0,061	0,68	666,7	20,0
Гюлоша розовая	6,02	0,015	0,047	1,05	340,0	16,6
Гюлоша красная	8,20	0,024	0,094	0,85	666,7	20,0
Казак-анор	10,91	0,018	0,047	0,85	580,0	21,6
Каим-анор	4,50	0,015	-	0,90	-	21,6
Никитский ранний	5,26	0,012	0,074	0,75	693,3	28,4
Апшеронский розе- вый	6,68	0,036	0,047	0,60	466,7	17,2

Ферганская долина Узбекской ССР

Кзыл-анор	4,40	0,012	0,080	0,44	765,0	17,2
Кай-ачик-анор	5,70	0,009	0,032	0,34	645,0	21,6
Салаватский	4,42	0,004	0,080	0,22	765,0	15,6

Полифенолы свежеежатого гранатового сока.

Полифенольные соединения помимо важного физиологического значения оказывают влияние на изменение окраски плодов в связи с ферментативными и неферментативными превращениями. Установлено, что в гранатах преобладают антоцианы, меньше катехинов; лейкоантоцианы и флавонолы не обнаружены. Полученные данные по содержанию полифенольных веществ представлены в таблице 1. Количество водорастворимых полифенолов изменяется по сортам от 0,22 до 1,05 %. Наиболее высокий их уровень отмечен у сортов южного берега Крыма: Гюлоша розовая, Каим-анор, Гюлоша красная, Казак-анор.

Содержание антоцианов колеблется от 340 до 765 мг %. Наиболее богаты антоцианами сорта: Кай-ачик-анор, Салаватский, Гюлоша красная, Никитский ранний. Рассматривая одноименные сорта из разных районов можно отметить, что на южном берегу Крыма и в Ферганской долине они имеют близкие значения красящих веществ, а в сорте Кзыл-анор из Ферганской долины содержание антоцианов выше по сравнению с тем же из Вахшской долины.

В свежеежатом соке установлено от 15,5 до 29,2 мг% катехинов. Высокие их значения отмечены у сортов Кзыл-анор (Вахшская долина) и Никитский ранний (Крым), у остальных - этот показатель незначительно изменяется.

Изучен качественный состав красящих веществ гранатового сока. Антоцианы выделяли из плодов двумя способами - осаждением насыщенным раствором основного уксуснокислого свинца с последующей регенерацией концентрированной соляной кислотой и адсорбцией на ионообменных смолах КУ-1 и Дауэкс 50 В х 2 в водородной форме. Антоцианы разделяли на бумаге нисходящим и восходящим способами (рис. 1). Чистоту и строение полученных пигментов определяли с помощью спектров поглощения при 240 - 600 нм, хроматографированием в нескольких системах растворителей, по продуктам частичного и полного гидролиза. В таблице 2 приведены значения R_f индивидуальных гликозидов в двух системах растворителей и их некоторые спектраль-



Рис. I Хроматограмма антоцианов свежеотжатого гранатового сока.

- 1 - производное дельфинидина
 2 - цианидин-3,5 -дигликозид
 3 - дельфинидин-3-гликозид
 4 - цианидин-3-гликозид
 5 - производное мальвидина

ные характеристики. Сахарные остатки расшифрованы у пигментов 2,3,4, так как они присутствуют в плодах в достаточных количествах. Все исследованные компоненты содержат глюкозу. Судя по окраске пятен в видимом свете, флуоресценции с УФ-лучах, отношению оптической плотности при 440 нм к максимальной (в %), смещению λ_{\max} при добавлении 1%-ного раствора $AlCl_3$, а также сравнивая значения R_f гликозидов с литературными данными и имеющимися метчиками нами установлено, что пигмент 1 - производное дельфинидина; 2 - цианидин - 3,5 -дигликозид; 3 - дельфинидин - 3 -гликозид; 4 - цианидин - 3 -гликозид; 5 - производное мальвидина.

Методом хроматографии на бумаге исследованы фенолкарбоновые кислоты. Разделение проводили восходящим и нисходящим способами в нескольких системах растворителей. Хроматограммы просматривали в УФ-свете, обрабатывали парами аммиака, диазотированной сульфаниловой кислотой, 1 % раствором $AlCl_3$ в этаноле, раствором, полученным при смешивании равных объемов 0,5% $K_3[Fe(CN)_6]$ и $FeCl_3$. По полученным значениям R_f , характерной окраске с различными проявителями нами идентифицированы хлорогеновая, неохлорогеновая, п-кумаровая и протокатеховая кислоты.

Таблица 2

Характеристика индивидуальных антоциановых пигментов

# пятна	Значения R_f в системах растворителей	Окраска в видимом свете	Флуоресценция в УФ-лучах	E_{\max}	E_{\min}	$E_{\min} \cdot 100$	λ_{\max}	λ_{\max} с $AlCl_3$
1	0,10	лиловая	слабая	0,145	0,040	28	530	540
2	0,17	розовая	яркая	0,50	0,065	13	525	535
3	0,21	лиловая	слабая	0,195	0,05	25	530	540
4	0,32	ярко-розовая	слабая	1,00	0,25	25	525	535
5	0,37	кремово-розовая	тусклая	0,088	0,02	23	515	515

Химический состав кожуры и перегородок

Вопрос утилизации отходов производства гранатового сока представляет значительный интерес. Кожура издавна применяется в народной медицине, однако биологически активные вещества ее изучены мало.

Нами исследована кожура трех сортов гранатов Ферганской долины и пяти сортов южного берега Крыма. Она содержит значительные количества редуцирующих сахаров; сахароза не обнаружена. Количество титруемых кислот по сортам изменяется от 4,22 до 5,86 %. Содержание пектиновых веществ колеблется от 2,95 до 3,63%, витамина С - от 21,8 до 32,7 мг %, тиамин - от 0,038 до 0,052 мг %.

Сумма спиртоводорастворимых полифенолов кожуры в пересчете на катехин чайного растения составляет 31,5 - 40,0%. Установлен количественный состав отдельных полифенолов: катехинов, лейкоантоцианов, флавонолов, антоцианов. Содержание катехинов в кожуре колеблется от 0,82 до 2,12%, в перегородках - от 0,25 до 0,50 %; флавонолы обнаружены в значительных количествах как в кожуре

(до 3,62 %), так и в перегородках (до 2,50%). Лейкоантоцианы и антоцианы сосредоточены в кожуре. Таким образом, наши исследования показали, что кожура и перегородки являются хорошим источником флавоноидов, которые в последние годы приобретают все большее значение как ценные биологически активные и лечебные вещества.

Однако, полифенолы кожуры и перегородок, экстрагированные соком, могут вызвать нежелательные изменения вкуса и цвета готового продукта. Для катехинов и лейкоантоцианов характерна способность к легкому окислению. Под действием солнечных лучей или при слабом нагревании они превращаются в окрашенные соединения, представляющие собой продукты конденсации первичнообразующихся при окислении кислородом воздуха хинонных форм. Полифенолы могут окисляться как ферментативно, так и путем аутооксидации. Нами установлена невысокая активность окислительно-восстановительных ферментов в кожуре и перегородках. В свежееотжатом соке ферменты не обнаружены. Это связано, очевидно, с тем, что они адсорбируются на твердых частях плода и в кислой среде не десорбируются.

Окислительные превращения полифенолов ускоряются в присутствии неорганических катализаторов - железа, меди, никеля, кобальта. Действие катализаторов усиливается, когда эти металлы присутствуют в растворах в виде сложных комплексных соединений.

Исследование факторов, влияющих на окраску гранатового сока

Одним из основных качественных показателей гранатового сока является его природная окраска, которая обуславливается полифенольными соединениями, в первую очередь, антоцианами и продуктами их превращения. На базе полученных данных по содержанию отдельных групп полифенолов нами проведена работа по исследованию причин изменения окраски сока в процессе его производства и хранения и изысканию способов предупреждения этих явлений.

Термическая обработка.

Для установления режимов тепловой обработки, благоприятных для сохранения натуральной окраски гранатового сока, мы исследовали изменения антоцианов в условиях определенных интервалов повышенных температур (70-100°C). Материалом для исследования служил свежееотжатый сок с содержанием антоцианов 573,7 мг % (интенсивно окрашенные) и 228,7 мг % (слабоокрашенные). В запаянных ампулах сок нагревали до заданной температуры и выдерживали в течение определенных промежутков времени (от 10 до 30 минут), после чего быстро охлаждали и проводили количественный и качественный анализ антоцианов. Установлено, что при нагревании наблюдаются их потери, которые растут с повышением температуры и продолжительности нагрева. Эти потери в значительной степени зависят от количества красящих веществ в свежееотжатом соке. Наиболее заметные изменения у интенсивно окрашенных соков наступают при нагревании до температуры более 90°C, у слабоокрашенных - до 70°C. Хроматографический анализ показал, что качественный состав красящих веществ в свежееотжатом и

прогретом соках одинаков, длительное температурное воздействие ведет к накоплению окисленных форм, теряющих подвижность в системах растворителей для антоцианов.

Влияние компонентов гранатового сока.

Изучено влияние отдельных химических компонентов сока на разложение антоцианов, выделенных из гранатов. Для этого к раствору антоцианов в буфере с pH 2,9 было добавлено, исходя из полученных нами данных о химическом составе сока, 7% фруктозы, 5% глюкозы, 2% лимонной кислоты, от 10 до 40 мг % аминокислот - глутаминовой, аспарагиновой, метионина, серина, цистина, цистеина, гистидина, аланина, лейцина, фенилаланина, валина, 25 мг % аскорбиновой кислоты. Содержание антоцианов в смеси было 187 мг %. Приготовлено три варианта сока в которые входили:

- 1 - все перечисленные компоненты;
- 2 - все компоненты, за исключением аскорбиновой кислоты и цистеина;
- 3 - все компоненты, за исключением аскорбиновой кислоты.

После пастеризации окраска сока изменяется только в варианте, содержащем все перечисленные компоненты, о чем свидетельствует уменьшение оптической плотности при $\lambda_{\text{макс}}$. Во всех остальных образцах спектрограммы после пастеризации почти не отличались от контроля. Через три месяца хранения оптическая плотность при 525 нм уменьшилась на 1/3 в контрольном образце; на 2/3 - в варианте, содержащем все компоненты за исключением аскорбиновой кислоты; совсем не было пика при длинах волн, характеризующих красные тона, у раствора, содержащего все компоненты. Спектрограмма варианта без цистеина и аскорбиновой кислоты не отличалась от контроля.

Таким образом, присутствие сахаров, лимонной кислоты и аминокислот, кроме цистеина, не оказывает влияния на разложение пигмента. Только цистеин и аскорбиновая кислота обесцвечивают антоцианы гранатов.

Условия хранения.

Пастеризованный сок с содержанием красящих веществ 525,0 и

172,0 мг % хранили при 2° и 20°С. Установлено, что потери антоцианов зависят от их содержания после пастеризации и температуры хранения. Остаточное содержание антоцианов в интенсивно окрашенных соках через 6 месяцев при 2°С составляет 43,2% против 30,3% - в слабоокрашенных и оно в два раза больше по сравнению с теми же образцами, хранившимися при 20°С.

Для исследования влияния на окраску сока кислорода воздуха, присутствующего в таре, часть ампул была запаена под вакуумом (40 мм рт.ст.). В этом случае содержание антоцианов оставалось на высоком уровне при всех режимах хранения. Потери антоцианов в соках, из которых был удален кислород через 6 месяцев при 20°С составили 27,1%, а при наличии кислорода - 77,3%. Эти опыты показывают, что основной путь превращений антоцианов в процессе хранения - окисление. Окисление красящих веществ приводит к образованию осадков, количество которых пропорционально степени полимеризации окисленных форм антоцианов.

Влияние солей металлов.

Причиной изменения натурального цвета плодов и овощей при консервировании нередко являются реакции полифенолов с металлами, которые накапливаются в продукте при его соприкосновении с корродирующими частями оборудования, причем антоцианы усиливают коррозию металлов.

Нами изучено влияние различных катионов на окраску гранатового сока. Для этого к свежееотжатому, предварительно отцентрифугированному соку добавляли: сернокислое, хлорное, лимоннокислое железо, хлорную и сернокислую медь, сернокислый и хлористый алюминий, хлорное олово. Концентрация катионов колебалась от 1 до 100 мг/л. Контролем служил сок без добавок. Все образцы хранили в темноте при комнатной температуре. Спектры в области 400-600 нм снимали с интервалом в 10 нм, а в области максимума поглощения - 2-3 нм.

Результаты исследования влияния Fe^{+++} представлены на рис.2. Добавки железа в количестве 1 и 3 мг/л не вызывают заметных изменений в окраске сока. Начиная с 5 мг/л появляется бурый

оттенек, увеличивается оптическая плотность при $\lambda_{\text{макс}}$ и наблюдается смещение максимума поглощения. Это свидетельствует об образовании хелатов. С увеличением добавки железа эти изменения становятся интенсивнее, у образца, содержащего 100 мг/л железа оптическая плотность при $\lambda_{\text{макс}}$ увеличивается на 1/5. Одновременно увеличивается оптическая плотность при 440 нм. Установлено, что 80% железа, внесенного в сок, находится в комплексном состоянии и 20% - в ионном. Комплексные соединения, образованные антоцианами гранатов и железом дисперсноустойчивы и сразу после пастеризации осадка не образуют. В процессе хранения наблюдается образование обильного осадка бурого цвета и уменьшение оптической плотности при $\lambda_{\text{макс}}$. Хелаты в меньшей степени подвергаются окислению, чем свободные антоцианы. Это подтверждается литературными данными. Цианин в составе синего комплекса совсем не разрушается либо очень незначительно ферментом цианиноксидазой, в то время как цианин из розовых лепестков, не входящий в состав комплекса очень быстро окисляется этим ферментом.

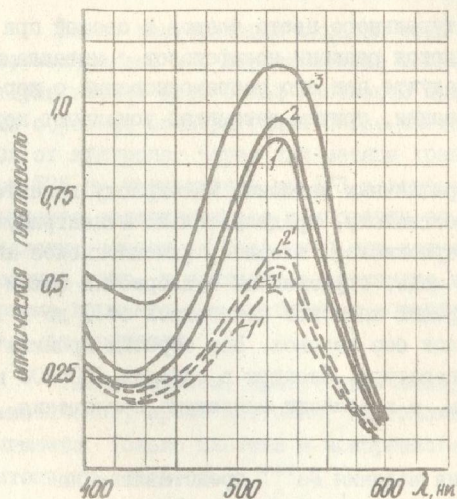


Рис. 2 Спектрограммы соков с добавками железа

— после пастеризации
 - - - - через 3 месяца хранения

I и I' - контроль
 2 и 2' - 5 мг/л Fe^{+++}
 3 и 3' - 100 мг/л Fe^{+++}

Антоцианы гранатов с оловом образуют хелаты фиолетово-синего цвета (рис. 3). Эти комплексы плохо растворимы и выпадают в осадок после пастеризации под влиянием 5 мг/л олова. С увеличением добавки олова оптическая плотность продолжает уменьшаться и при 100 мг/л составляет 2/3 от контроля.

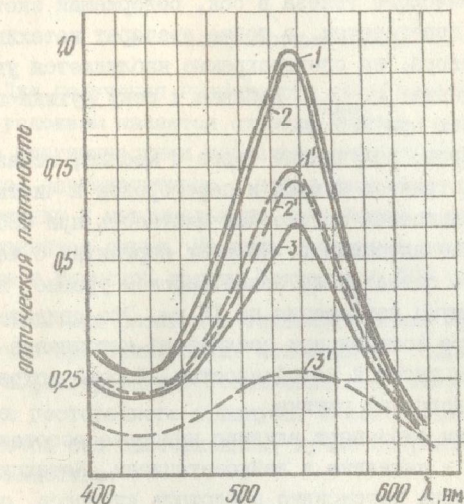


Рис. 3 Спектрограммы соков с добавками олова

— после пастеризации

- - - - через 3 месяца хранения

I и I' - контроль

2 и 2' - 5 мг/л ++++

3 и 3' - 100 мг/л +++

Алюминий с антоцианами гранатов образует хорошо растворимые хелаты. Начиная с концентрации 10 мг/л появляется сдвиг максимума поглощения в сторону длинных волн и увеличение оптической плотности при $\lambda_{\text{макс}}$.

Влияние меди на окраску гранатового сока незначительно.

Влияние экстрактивных веществ кожуры и перегородок. Исследовано влияние экстрактивных веществ частей плода - кожуры и перегородок на окраску сока. Для этого их навески в количестве 3% растирали с соком и оставляли для экстрагирования на 1 час. При этом наблюдали увеличение содержания водорастворимых полифенолов в соке от 0,45 до 1,25 - 1,30%, причем количество катехинов увеличивалось на 80%, появлялись лейкоантоцианы и флавонолы. Помимо этого в соке растворяли чистые препараты катехинов

и рутина в количестве 40 мг%.

После пастеризации и через 3 месяца хранения сняты спектры в видимой и ультрафиолетовой области. Экстрактивные вещества кожуры и перегородок сразу после пастеризации вызывают изменение интенсивности окраски, оптическая плотность при 525 нм уменьшается вдвое. Аналогичная картина наблюдается у образца с препаратом катехинов. Внесение сернокислого железа в сок, содержащий экстрактивные вещества кожуры и перегородок, а также препарат катехинов, приводит к побурению раствора, на спектрограмме наблюдается увеличение экстинкции и смещение $\lambda_{\text{макс}}$. Добавка к соку рутина повышает оптическую плотность при 525 нм.

Спектрограммы растворов, полученные через 3 месяца, показывают, что в образцах с экстрактом кожуры и перегородок и чистым катехином значительно уменьшается оптическая плотность при 525 нм, что указывает на разрушение антоцианов. Во всех вариантах с железом оптическая плотность остается на более высоком уровне, но происходит смещение максимума поглощения на 15 нм. Это свидетельствует о наличии в растворе комплексных соединений антоцианов с железом, характеризующихся высокой устойчивостью. Хорошо сохраняется окраска в образце с добавкой рутина.

Очевидно, на антоцианы оказывают влияние наиболее восстановленные группы полифенолов — катехины и лейкоантоцианы. Катехины, растворенные в соке, способны интенсивно поглощать кислород, окисляясь при этом до хинонов, которые весьма неустойчивы и с большой скоростью подвергаются дальнейшим превращениям. Хиноны характеризуются высокой реакционной способностью и могут окислять другие соединения, например, аскорбиновую кислоту. Возможно, хиноны, образованные при окислении катехинов и лейкоантоцианов, окисляют антоцианы, а в окисленной форме последние уплотняются и выпадают в осадок. Соединения антоцианов с железом более устойчивы к действию хинонов. Рутин, очевидно, играет роль копигмента, усиливая окраску при 525 нм.

Таким образом, нами установлено, что на сохранение натурального цвета гранатового сока, оказывают влияние: ионы металлов, продолжительность и температура нагрева, начальное содержание антоцианов в сырье, цистеин и аскорбиновая кислота, присутствующие в продукте, экстрактивные вещества кожуры и перегородок, по-

падающих при выбивании зерен, условия хранения готового продукта.

Технологические исследования

Лабораторные опыты.

Для получения гранатового сока высокого качества обязательным условием является строгий подбор сортов. Поэтому нами наряду с биохимическими исследованиями гранатов проведено технологическое сортоиспытание с целью выявления пригодности для консервирования и максимального сохранения в соках природных ценных компонентов сырья. Из всех изученных нами сортов южного берега Крыма и Вахшской долины Таджикской ССР выработаны соки.

Испытаны различные технологические приемы. Лучший результат получен при применении "мгновенного подогрева", центрифугирования и фильтрации. Осветление сока желатином приводит к появлению постороннего привкуса. В соке, консервированном сорбиновой кислотой без пастеризации, лучше сохраняются биологически активные вещества.

Органолептические и биохимические исследования соков показали, что лучшими по вкусу, внешнему виду и показателям пищевой ценности являются соки из сортов: Гюлоша розовая, Казаке-анор, Кызыл-анор, Нор-алма, Пейпшел, Гюлоша красная.

Изыскание режимов стерилизации.

В настоящее время разработка режимов стерилизации основывается на математической обработке данных микробиологических и теплофизических исследований с последующим расчетом требуемой и фактической летальности процесса или так называемого стерилизующего эффекта. За норму приведенного стерилизующего эффекта для фруктовых соков без мякоти выбрана величина А, равная 40 условным минутам при 80°C.

Проверка предложенного технологической инструкцией режима

№ 0 12157

Одесский технологический институт пищевой промышленности

стерилизации сока (20 минут при 80°C) показала, что такая тепловая обработка эквивалентна всего лишь 28,5 условным минутам. Поскольку полученное значение оказалось ниже нормы, следовало разработать новые режимы стерилизации с требуемой величиной А-эффекта. Математическая обработка данных прогреваемости показала, что для достижения А-эффекта, равного 40 условным минутам, гранатовый сок следует стерилизовать по режимам, указанным в таблице 3.

Таблица 3

Вид расфасовки	I - 82 - 500		I - 58 - 200	
	25	60	25	60
Температура расфасовки, °C	20-25-20	10-20-20	20-15-20	10-15-20
Режим стерилизации	85°	85°	85°	85°
А-эффект	44,6	42,9	39,0	38,3

Производственные испытания и внедрение усовершенствованной технологии.

Учитывая результаты опытов по исследованию факторов, влияющих на окраску сока, и лабораторных испытаний, нами разработана технология гранатового сока, предусматривающая полное отсутствие контакта с корродирующим металлом, минимальное соприкосновение с воздухом, щадящую тепловую обработку, исключение попадания частичек кожуры и перегородок при выбивании зерен, использование интенсивно окрашенных плодов.

Усовершенствованная технология внедрена на Курган-Тюбинском консервном заводе Таджикской ССР. Экономия от внедрения составила 21,7 тыс. рублей.

Технологический процесс заключается в следующем: сырье инспектируют, моют, отделяют зерна от кожуры и перегородок, пресуют, свежееотжатый сок подвергают "мгновенному подогреву" до 85°C и охлаждению до 20°C, фильтруют, расфасовывают, пастеризуют. По описанной технологии, начиная с 1967 года выработано около 100 тысяч условных банок натурального гранатового сока из смеси сортов и трех районированных сортов - Кзыл-анор, Казаке-анор, Салаватский. Кроме того, выработаны соки с сорбиновой кислотой без пастеризации, с сахарным сиропом, купажируемый из гранатового и виноградного. Все образцы соков на расширенной дегустации в Министерстве пищевой промышленности Таджикской ССР в 1967 и 1968 годах получили высокие оценки.

По содержанию сухих веществ, сахаров и кислот консервированные соки почти не отличаются от свежееотжатых (табл. 4). В натуральных соках количество аскорбиновой кислоты уменьшается на 20,8 - 33,3%, тиамин на 20-40%, рибофлавин - на 20-56%, антоцианов - на 33-35%. Меньше потери красящих веществ в соках консервированных сорбиновой кислотой. Хроматографическое исследование антоцианов показало, что в соках появляются окисленные формы, теряющие подвижность в системах растворителей для антоцианов и проявляющиеся на старте в виде бурых пятен. Лучше сохраняются производные цианидина, хуже - дельфинидина.

Хорошими органолептическими свойствами обладает купажируемый сок из гранатового и виноградного. Приятный вкус сочетается с широким комплексом физиологически активных веществ. По сравнению с натуральным соком в купажируемом увеличивается содержание сахаров на 13,5%, катехинов - на 78,8%, витамина B₂ - на 58,5%, уменьшается титруемая кислотность, увеличивается сахарокислотный индекс.

Часть сока, выработанного по усовершенствованной технологии была заложена на хранение при 2° и 20°C. В течение 12 месяцев хранения не обнаружено заметных изменений в содержании сахаров и кислот (табл. 5). Количество витамина С уменьшается на 30-40% при 2°C и на 70% - при комнатной температуре. Хорошо сохраняются витамины группы В независимо от условий хранения.

Изменения претерпевают красящие вещества. Основная их часть разрушается в первые 6 месяцев хранения. Затем этот процесс замедляется, но продолжается до полного исчезновения антоцианов. Происходит их окислительное конденсирование. На определенной стадии полимеризации конденсированные антоцианы становятся нерастворимыми и выпадают в осадок. Потери антоцианов через 6 месяцев при 20°C достигают 70%, сок приобретает красно-оранжевую окраску, которая обусловлена антоцианами и продуктами окисления полифенолов. Такая окраска сохраняется в течение последующих 6 месяцев. Хранение при низких температурах позволяет затормозить процесс окисления. Остаточное содержание антоцианов через 6 месяцев при 2°C составляет 50-55%, через 12 месяцев - 30-35%. Сок сохраняет красную окраску, характерную для гранатов. Количество осадка через 12 месяцев хранения не превышает 0,15%.

Усовершенствованная технология была испытана также на Ферганском консервном заводе (Кувинский цех). Сок, выработанный по старой технологии, характеризовался невысокой пищевой ценностью, содержание железа в нем достигало 135 мг/л. Нами было устранено соприкосновение продукта с частями оборудования, подвергающимися коррозии, введен "мгновенный подогрев", заменен режим пастеризации. Судя по аналитическим данным, соки из гранатов зоны Кувинского цеха по большинству показателей мало отличаются от соков, полученных на Курган-Тюбинском заводе, различие состоит в содержании красящих веществ. Это связано с тем, что сырье, поступавшее на переработку на этот завод, отличалось от Курган-Тюбинского и характеризовалось незначительным количеством антоцианов (100-150 мг %). Потери красящих веществ при переработке таких плодов достигают 60%. Содержание антоцианов в соке после пастеризации составляет 48-86,5 мг %. Таким образом, несмотря на улучшение вкусовых качеств сока и повышение его пищевой ценности по сравнению с соком, изготовленным по старой технологии, он имел бледную окраску, не характерную для гранатов. В процессе хранения наблюдается дальнейшее окисление антоцианов и через 6 месяцев красящие вещества полностью разрушаются. Производственные испытания подтвердили данные лабораторных опытов,

Химический состав соков из сорта Кзыл-анор,
выработанных по усовершенствованной технологии

Таблица 4

Показатели	: Свеже-: Пастеризованный			:С сорбино- :вой кисло- :той без :пастериза- :ции
	:отжатый : : :	:натураль- :ный : :	:с сахарным :сиропом : :	
Сухие вещества, %	16,6	16,4	19,2	16,4
Сахароза, %	0,	0	3,42	0
Глюкоза, %	6,45	6,68	6,78	6,56
Фруктоза, %	6,11	5,64	6,80	5,76
Титруемая кислотность, %	1,77	1,75	1,54	1,76
pH	3,2	3,2	3,2	3,2
Витамины, мг %				
С	3,96	2,64	1,70	3,20
В ₁	0,015	0,012	-	0,013
В ₂	0,095	0,076	0,043	0,076
Водорастворимые поли- фенолы, %	0,70	0,75	0,50	0,75
Антоцианы, мг %	380,0	245,8	192,3	268,0
Катехины, мг %	29,2	16,4	13,2	-

Таблица 5

Изменение химического состава натурального
гранатового сока из сорта Казаке-анор в процессе хранения

Показатели	20°C		20°C		
	: После па- : стеризации:	6 мес.	12 мес.	6 мес.	12 мес.
Сухие вещества, %	15,4	15,2	15,2	15,2	15,2
Глюкоза, %	6,78	6,60	6,74	6,68	6,52
Фруктоза, %	5,22	5,22	5,00	5,16	5,18
Титруемая кислот- ность, %	1,94	1,90	1,90	1,88	1,86
Витамины, мг. %					
С	3,90	2,12	1,54	1,68	1,18
В _I	0,010	0,010	0,010	0,09	0,08
В ₂	0,054	0,050	0,046	0,046	0,046
Водорастворимые по- лифенолы, %	0,56	0,44	0,40	0,38	0,30
Антоцианы, мг %	215,6	112,0	86,4	78,2	40,6
Катехины, мг %	21,6	12,2	следы	9,4	0

в ходе которых было установлено, что содержание антоцианов в свежесжатом соке оказывает решающее влияние на уровень потерь их в процессе технологической переработки и хранения.

Антимикробные свойства гранатового сока.

Консервированные соки, выработанные в лабораторных и производственных условиях, обладают антимикробными свойствами по отношению к неспорообразующим бактериям *E. coli*, *Proteus vulgaris*, *Bact. carotovorum*, *Staph. aureus*. Эти свойства сохраняются при длительном хранении соков (три года). В натуральных соках, выработанных по усовершенствованной технологии, *E. coli* погибает через 24 часа; *Proteus vulgaris* - через 10-40 мин.; *Bact. carotovorum* - через 5-10 мин. после инфицирования. Добавление сорбиновой кислоты усиливает антимикробные свойства: *E. coli* погибает через 60 мин., *Bact. carotovorum* - через 5 мин. Осветление сока желатином ослабляет антибактериальные свойства: срок гибели *E. coli*, *Proteus vulgaris*, *Staph. aureus* увеличивается вдвое. Сок с сахарным сиропом обладает такими же антимикробными свойствами, как и натуральный по отношению ко всем микробам, кроме *Bact. carotovorum*, которая погибает через 40 мин. На рост спорообразующих микроорганизмов *Bac. subtilis* и *Bac. mesentericus* соки из разных сортов гранатов не оказывают действия.

Общие выводы

Биохимические, химические и технологические исследования гранатов трех районов произрастания, проведенные с применением хроматографических, спектрофотометрических, флуориметрических и других методов анализа позволили сделать следующие выводы:

I. Сорта Казаке-анор, Гюлоша красная, Назык-кабух, Мелес, Нор-алма, характеризуются более высоким содержанием витаминов С, В_I, В₂, азотистых соединений, углеводов. Исследование отдельных форм витаминов показало, что в гранатах преобладает свобод-

ная аскорбиновая кислота и связанная форма тиамин. В сортах Вахшской долины Таджикской ССР больше накапливается витамина В₂.

Установлено содержание минеральных элементов в соке. Плоды южного берега Крыма накапливают больше магния, железа, кальция, Вахшской долины – марганца, алюминия, кремния. Наблюдается прямое соответствие между накоплением марганца и витамина С.

2. Методом хроматографического анализа установлено в гранатах всех сортов и районов произрастания наличие глюкозы и фруктозы. Органические кислоты представлены лимонной кислотой, в следах обнаружены винная, яблочная, янтарная. Идентифицированы и количественно определены свободные аминокислоты.

3. Гранаты являются хорошим источником полифенолов. В свежееотжатом соке установлено содержание водорастворимых полифенолов (0,22–1,05%), антоцианов (340–765 мг%), катехинов (15,5–29,2 мг%). Красящие вещества гранатового сока представлены цианидин-3-гликозидом (основной пигмент), цианидин-3,5-дигликозидом, дельфинидин-3-гликозидом и двумя другими производными дельфинидина и мальвидина. В соке плодов обнаружены фенолкарбоновые кислоты: хлорогеновая, неохлорогеновая, *p*-кумаровая и протокатеховая кислоты.

В кожуре и перегородках определены значительные количества катехинов, лейкоантоцианов, флавонолов. Содержание спиртоводорастворимых полифенолов в кожуре достигает 40%.

4. Установлено влияние повышенных температур и продолжительности их воздействия на количество антоцианов в соке из интенсивно и слабоокрашенных плодов. Наиболее заметные изменения в антоциановом комплексе плодов с интенсивной окраской наблюдаются при нагревании до температуры более 90°C, со слабой – до 70°C. Для технологической переработки пригодны плоды только с высоким содержанием антоцианов (более 300 мг%).

5. Из исследованных химических компонентов гранатового сока (сахара, лимонная кислота, аминокислоты, аскорбиновая кислота) только цистеин и аскорбиновая кислота вызывают обесцвечивание антоцианов, выделенных из гранатов.

6. Изучено влияние солей различных металлов (железа, олова, меди, алюминия) на изменение его окраски, обусловленное образованием комплексных соединений антоцианов с металлами. Хелаты с железом имеют бурый цвет, растворимы и довольно устойчивы к окислению. Комплексные соединения антоцианов с оловом плохо растворимы, образуют обильный осадок фиолетового цвета. Осаждение хелатов начинается под влиянием 5 мг/л олова. Алюминий образует с антоцианами хорошо растворимые комплексы красно-коричневого цвета. Медь не оказывает существенного влияния на окраску сока. Чтобы избежать побурения сока в процессе его производства, необходимо устранить соприкосновение продукта с металлом, подвергающимся коррозии и использовать оборудование из нержавеющей стали, обладающей большой коррозионной устойчивостью в агрессивных средах.

7. Установлено влияние экстрактивных веществ кожуры и перегородок, а также чистых препаратов катехина и рутина в присутствии железа и без него на окраску сока. Полифенолы кожуры и перегородок при растворении в соке интенсивно поглощают кислород, образуя хиноны, которые, являясь реакционноспособными соединениями, окисляют антоцианы, что приводит к обесцвечиванию сока и образованию осадка. Аналогичная картина наблюдается при добавлении катехинов. Рутин стабилизирует окраску сока.

8. Разработана технология гранатового сока, которая предусматривает полное отсутствие контакта с корродирующим металлом, минимальное соприкосновение с воздухом, щадящую тепловую обработку, исключение попадания частичек кожуры и перегородок в зерна, использование плодов с высоким содержанием красящих веществ. Предложены новые режимы пастеризации гранатового сока. Усовершенствованная технология успешно внедрена на Курган-Тюбинском консервном заводе.

9. Исследована пищевая ценность соков непосредственно после пастеризации и через 6 и 12 месяцев хранения. По содержанию сухих веществ, сахаров, кислот, водорастворимых полифенолов консервированные соки незначительно отличаются от свежееотжатых.

При переработке снижается содержание витаминов С, В₁, В₂, антоцианов, катехинов. В процессе хранения соков при 20°C биологически активные вещества сохраняются лучше, чем при комнатной температуре. Окраска соков через 12 месяцев при 20°C изменяется от рубиновой до красной, при 20°C - до оранжевой.

10. Соки, выработанные в лабораторных и производственных условиях, обладают антимикробными свойствами по отношению к неспорообразующим микроорганизмам *E. coli*, *Proteus vulgaris*, *Bact. carotovorum*, *Staph. aureus*. Консервирование сока сорбиновой кислотой усиливает эти свойства. На рост спорообразующих микроорганизмов *Bac. subtilis* и *Bac. mesentericus* соки из гранатов не оказывают действия.

Материалы диссертации опубликованы в следующих работах:

1. Производство гранатового сока в Таджикской ССР. В журнале "Консервная и овощесушильная промышленность", № 8, 1969, стр. 19.
2. Биохимическая характеристика гранатов и ее изменения при консервировании. В сборнике тезисов докладов Всесоюзной межвузовской конференции по термическим методам обработки при консервировании пищевых продуктов, Одесса, 1969, стр. 29.
3. Биохимическая характеристика украинских и среднеазиатских гранатов. В сборнике тезисов докладов 4-й одесской городской конференции по химии молодых ученых и производственников, Одесса, 1970, стр. 117.
4. Совершенствование технологии производства гранатового сока. В сборнике "Реферативная информация о законченных научно-исследовательских работах в ВУЗах УССР", Пищевая промышленность, Киев, выпуск IV, 1970, стр. 20.
5. Полифенолы свежих и консервированных плодовых соков. В сборнике тезисов 2-го симпозиума по фенольным соединениям, Алма-Ата, 1970, стр. 67.
6. Биологически активные вещества персиков, гранатов, черной смородины и земляники юга Украины и Средней Азии. В трудах

IV Всесоюзного семинара по биологическим активным (лечебным) веществам плодов и ягод, Мичуринск, 1972, стр. 35

Материалы диссертации доложены на:

1. XXXV научной конференции ОТИПХП, Одесса, 1969
2. XXXI научной конференции ОТИП им. Ломоносова, 1971
3. XXXIII научной конференции ОТИП им. Ломоносова, 1972
4. Втором Всесоюзном биохимическом съезде, Ташкент, 1969
5. Конференции молодых биологов и химиков. г. Одесса, 1971
6. Заседании Одесского отделения Всесоюзного биохимического общества, 1972