



## **ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ ДОЗИРОВОК ПРОТЕОЛИТИЧЕСКИХ ФЕРМЕНТОВ НА ВЫХОД И КАЧЕСТВО БЕЛКОВЫХ ПРОДУКТОВ ПРИ ГЛУБОКОЙ ПЕРЕРАБОТКЕ ВТОРИЧНОГО РЫБНОГО СЫРЬЯ**

С. В. Агафонова, ФГБОУ ВО «Калининградский государственный технический университет», канд. техн. наук, доцент кафедры пищевой биотехнологии, e-mail: andronova\_sv@bk.ru

Исследован процесс ферментативного гидролиза вторичного рыбного сырья (голов скумбрии) протеолитическими ферментными препаратами Protamex и Flavourzyme в различных дозировках к общей массе сырья и воды. Исследована глубина гидролиза, выход и химический состав трех фракций, образующихся в результате ферментативного гидролиза: жидкой белковой, белково-минеральной и жировой. Исследован химический состав лиофильно высушенной белковой и высушенной на воздухе белково-минеральной фракций.

*вторичное рыбное сырье, скумбрия, ферментализ, гидролизат, белковые продукты, Protamex, Flavourzyme*

Утилизация отходов является глобальной задачей человечества. Только в России ежегодно образуется в среднем около 3,5 млрд. т отходов. Более 35 млн. т мусора вывозится на полигоны с целью захоронения. Около 40 % отходов, подлежащих вывозу на полигоны, составляют пищевые отходы [1]. Скоропортящиеся пищевые отходы способствуют развитию неблагоприятных микробиологических условий в почве и, разлагаясь, негативно влияют на экологическую обстановку в целом.

Значительным потенциалом для дальнейшей переработки обладают белоксодержащие отходы, к которым относится и вторичное рыбное сырье. Объем отходов, накапливающихся в рыбоперерабатывающей отрасли, огромен и достигает 70 % от массы перерабатываемого сырья [2]. Лишь небольшая доля крупных рыбоперерабатывающих предприятий производит рыбную муку из образующихся отходов. Основная же часть вторичного рыбного сырья захоранивается на полигонах, либо утилизируется. Между тем белок вторичного рыбного сырья характеризуется высокой биологической ценностью и может быть использован на пищевые цели.

Актуальным направлением реализации потенциала белоксодержащего сырья является получение биологически активных пептидов. Активные пептиды с молекулярной массой менее 10 кДа оказывают антиокислительное, антистрессовое, иммуномодулирующее действие. Помимо пищевой промышленности пептиды находят применение в микробиологической, косметической, медицинской промышленности [3].

Для переработки белоксодержащего рыбного сырья с получением низкомолекулярных пептидов используются методы гидротермической, ферментативной деструкции сырья, либо комбинация этих методов [3, 4]. Целью работы явилось исследование процесса ферментативного гидролиза рыбного сырья протеолитическими ферментными препаратами в различных дозировках с получением белкового гидролизата.

Для исследования процесса ферментативного гидролиза в качестве сырья использовали головы скумбрии, которые были получены с крупного рыбоперерабатывающего предприятия Калининградской области. Предварительно сырье измельчали до фаршеобразного состояния (рис. 1).

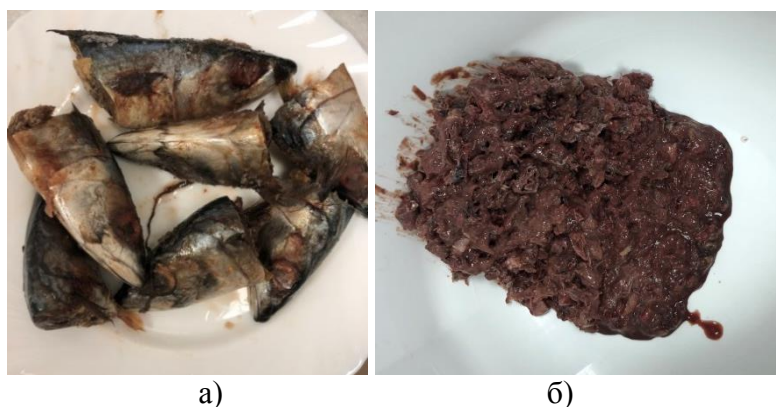


Рисунок 1 – Рыбное сырье до (а) и после (б) измельчения

Для эксперимента были выбраны ферментные препараты (ФП) производителя Novozymes (Дания): Protamex и Flavourzyme. Protamex является эндопептидазой, синтезируемой микроорганизмами *Bacillus subtilis* с заявленной активностью 1,5 единиц активности Ансона на грамм. Особенностью данного ферментного препарат является то, что он не образует горьких белковых гидролизатов даже при низкой степени гидролиза [5]. Flavourzyme является комплексом грибной протеазы, полученной при культивировании штамма *Aspergillus oryzae*, обладает как эндопептидазной, так и экзопептидазной активностью. Заявленная активность ферментного препарата Flavourzyme составляет 500 единиц лейцинаминопептидазы на грамм [6]. Оба фермента проявляют наибольшую активность при температуре 60 °С и нейтральном рН 6-7, что соответствует естественному рН рыбного сырь.

Исследовали ферментативный гидролиз при трех различных дозировках ферментных препаратов: 0,05; 0,1; 0,25 % каждого фермента к общей массе сырья и воды. Каждый опыт проводили в двух параллелях. Измельченное сырье помещали в банку с прикручивающейся крышкой, добавляли подогретую воду в соотношении 1:1 к массе сырья и ферментный препарат Protamex. Ферментализ вели в течение 1 ч при температуре 60°С и постоянном перемешивании. После вносили ферментный препарат Flavourzyme и вели ферментализ еще 1 ч.

По окончании ферментализ осуществляли инактивацию ферментов при температуре 85°С в течение 10 мин. После инактивации пробы центрифугировали и замораживали для отделения жира. После разделения фракций жидкий протеиновый гидролизат высушивали лиофильно, плотный белково-минеральный осадок высушивали на воздухе.

Содержание влаги, жира, минеральных веществ в протеиновом гидролизате и белково-минеральном осадке, содержание формально-титруемого азота (ФТА) в протеиновом гидролизате определяли по стандартным методикам (ГОСТ 7636-85), содержание белка – расчетным методом.

Выход протеинового гидролизата, белково-минерального осадка и жира после ферментативного гидролиза с различными дозировками ферментных препаратов, химический состав фракций представлен в табл. 1.

Таблица 1 – Выход и характеристика фракций, полученных после ферментативного гидролиза

Показатель	Номер эксперимента		
	1	2	3
1	2	3	4
Количество вносимых ФП, % к общей массе сырья и воды	0,05	0,1	0,25
Протеиновый гидролизат:			
выход, %	43,23	59,45	72,60
содержание влаги, %	93,53	93,55	93,66
содержание сухих веществ, %	6,47	6,44	6,34
в т. ч. белка, %	5,75	5,84	5,52

Окончание табл. 1

1	2	3	4
жира, %	0,04	0,13	0,16
минеральных веществ, %	0,68	0,48	0,65
содержание ФТА, мг%	450,00	539,79	553,63
<b>Белково-минеральный осадок:</b>			
выход, %	56,77	39,46	27,40
содержание влаги, %	78,83	69,66	62,97
содержание сухих веществ, %, в т. ч.: белка, %	21,17	30,34	37,03
жира, %	10,09	12,04	15,34
минеральных веществ, %	7,47	7,82	15,09
<b>Жир:</b>			
выход, %	3,52	5,09	6,61
	0,00	1,10	0,00

В экспериментальных образцах с минимальной и максимальной дозировкой ферментов не удалось отделить жир после замораживания. Небольшое количество жира отделилось только в образце с дозировкой ферментов 0,1%. Невозможность разделения фаз связана с недостаточным ферментативным разрушением жировых клеток при дозировке ферментов 0,05 % и эмульгированием выделившихся жиров при максимальной дозировке ферментных препаратов. Проведенные ранее исследования [4] показали, что увеличению выхода жира способствует высокотемпературный термолиз при давлении 2,5 атм., а также применение для ферментативного гидролиза ферментного препарата Alcalase 2,5 L. Наибольший выход протеинового гидролизата и содержание формольно-титруемого азота отмечались в экспериментальном образце с максимальной дозировкой ферментных препаратов 0,25% к общей массе сырья и воды.

Измельченные высушенные протеиновый гидролизат и белково-минеральный осадок представлены на рис. 2. Выход и химический состав готовых порошков представлены в табл. 2.

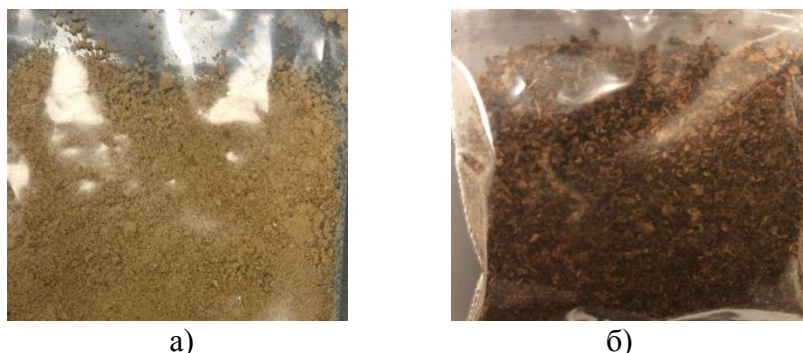


Рисунок 2 – Измельченные протеиновый гидролизат после лиофильного высушивания (а) и белково-минеральный осадок после высушивания на воздухе (б)

Таблица 2 – Выход и характеристика протеинового и белково-минерального порошков после высушивания

Показатель	Номер эксперимента		
	1	2	3
1	2	3	4
Количество вносимых ФП, % к общей массе сырья и воды	0,05	0,1	0,25
<b>Протеиновый порошок:</b>			
выход, % от массы сырья	5,98	8,10	11,28
содержание влаги, %	8,02	4,93	18,44

1	2	3	4
содержание сухих веществ, %	91,98	94,70	81,57
в т. ч.: белка, %	83,23	85,81	71,08
жира, %	0,65	1,91	2,06
минеральных веществ, %	9,77	6,98	8,46
Белково-минеральный порошок:			
выход, % от массы сырья	24,76	20,04	21,00
содержание влаги, %	2,90	1,86	0,81
содержание сухих веществ, %	97,11	98,14	96,87
в т. ч.: белка, %	46,31	47,35	40,12
жира, %	34,25	30,76	39,47
минеральных веществ, %	16,14	20,03	17,29

Протеиновый порошок наилучшего качества удалось получить при измельчении высушенного гидролизата с дозировкой протеолитических ферментов 0,1% к общей массе сырья и воды (эксперимент 2). Полученный продукт характеризовался наименьшим содержанием влаги (4,93%) и наибольшим содержанием белка (94,70%). При дозировке ферментов 0,05% отмечалась наименьшая глубина гидролиза рыбного сырья и соответственно наименьший выход протеинового порошка. После ферментативного гидролиза с добавлением 0,25% ферментных препаратов высушенный протеиновый гидролизат плохо измельчался, отличался липкой влажной консистенцией, в нем отмечено наибольшее содержание влаги (18,44%). Вероятно, это связано с выделением коллагена в ходе ферментативного гидролиза при отсутствии дальнейшей высокотемпературной обработки.

Таким образом, при выбранных условиях и используемых ферментных препаратах наилучшими характеристиками отличается протеиновый порошок, полученный при добавлении ферментов в количестве 0,1% к общей массе сырья и воды. Для более полного обезжиривания необходимо применять высокотемпературный термолиз. Полученные протеиновые порошки характеризуются высоким содержанием белка (более 80%) и могут использоваться в качестве белковых обогащающих добавок в различных сферах пищевых производств. Высушенный белково-минеральный осадок, содержащий около 40% белка и более 16% минеральных веществ, может использоваться в кормовых целях.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Мирошниченко, Д. Обзор рынка сбора и переработки отходов // Портал бизнес-планов и руководств по открытию малого бизнеса [Официальный сайт]. [Электронный ресурс] – Режим доступа: <https://www.openbusiness.ru/biz/business/obzor-rynka-sbora-i-pererabotki-otkhodov/> (дата обращения 11.10.2018).
2. Оценка потенциала вторичного белоксодержащего сырья на предприятиях Калининградской области и России / О.Я. Мезенова [и др.] // Вестник науки и образования Северо-Запада России. – 2017. – № 4, т. 3. [Электронный ресурс] – Режим доступа: <http://vestnik-nauki.ru/wp-content/uploads/2017/12/2017-N4-Mezenova.pdf> (дата обращения 11.10.2018).
3. Инновационное получение протеинов из белоксодержащего биологического сырья / А. Хелинг [и др.] // Вестник науки и образования Северо-Запада России. – 2017. – № 2, т. 3. [Электронный ресурс] – Режим доступа: <http://vestnik-nauki.ru/wp-content/uploads/2017/08/2017-N2-Hoehling-Mezenova.pdf> (дата обращения 11.10.2018).
4. Агафонова, С. В. Вторичное сырье рыбоперерабатывающих предприятий Калининградской области – источник ценного пищевого жира / С. В. Агафонова // Известия КГТУ. – 2018. – № 49. – С. 69-74.

5. Nguyen Thi Quynh Hoa, Dong Thi Anh Dao. Release bioactive peptides from enzymatic hydrolysed soybean by Alcalase and Protamex using response surface methodology. Journal of Science and Technology, 2017, no 55 (2), pp. 137-149.

6. Nguyen Thi Quynh Hoa et al. Investigation of enzymatic optimization by Flavourzyme and Celluclast for soy protein hydrolysate powder. IJAPBC, 2014, Vol. 3(3), pp. 550-562.

## RESEARCH OF INFLUENCE OF DOSAGES OF PROTEOLYTIC ENZYMES ON QUANTITY AND QUALITY OF PROTEINACEOUS PRODUCTS AT DEEP PROCESSING OF SECONDARY FISH RAW MATERIALS

S. Agafonova, PhD in Engineering, Associate Professor,

[andronova\\_sv@bk.ru](mailto:andronova_sv@bk.ru)

Kaliningrad State Technical University

Process of enzymatic hydrolysis of secondary fish raw materials (the heads of a mackerel) by proteolytic Protamex and Flavourzyme enzymes in various dosages to the lump of raw materials and water is investigated. Hydrolysis depth, quantity and the chemical composition of three fractions which are formed as a result of enzymatic hydrolysis is investigated: liquid proteinaceous, proteinaceous and mineral and fatty. The chemical composition which is dried up proteinaceous and proteinaceous and mineral fractions is investigated.

*secondary fish raw materials, mackerel, enzymatic hydrolysis, hydrolysate, proteinaceous products, Protamex, Flavourzyme*