



## ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОЦЕССА СТУПЕНЧАТОЙ ФЕРМЕНТАЦИИ БЕЛКОВ ЧЕШУИ САРДИНЕЛЛЫ АУРИТЫ

Н. Ю. Мезенова, канд. техн. наук, доцент  
Nataliya.mezenova@klgtu.ru  
ФГБОУ ВО «Калининградский государственный  
технический университет»

Изучен общий химический состав чешуи сардинеллы ауриты. Проведены сравнительные исследования по ферментализу белков чешуи с применением различных дозировок комбинации протеолитических ферментов. Установлено, что при концентрации протеолитических ферментных препаратов Protamex и Flavorzyme 0,25 % к общей массе сырья и воды выход сухого протеинового гидролизата в усвояемой форме составил 10,90 %.

*вторичное рыбное сырье, чешуя, ферментализ, Protamex, Flavorzyme, пептиды*

Наличие больших объемов вторичного рыбного сырья (в первую очередь это головы, кости, чешуя и др. [1]) является острой проблемой многих предприятий Калининградской области и России в целом. Так, на крупнейшем рыбоперерабатывающем предприятии ООО «РосКон» (г. Пионерский) при разделке рыбы на филе одним из побочных продуктов является чешуя. С учетом полученной на всех рыбоперерабатывающих предприятиях региона ее объем может превысить 1 т/сут. Традиционно чешуя рыб может использоваться в качестве белкового компонента для производства кормовой муки [2]. Однако ее доля, как правило, составляет не более 5 %. Большая же ее часть никакого применения не находит. К тому же структурно сложное многокомпонентное строение чешуи, представленное главным образом высокоупорядоченными коллагеновыми волокнами и кальцийдефицитным минералом гидроксиапатита  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ , трудно переваривается пищеварительными ферментами животных. Кроме того, по этой же причине нативная чешуя достаточно плохо подвергается измельчению.

На кафедре пищевой биотехнологии ФГБОУ ВО «КГТУ» разработаны методики ферментализа рыбной чешуи с целью получения пищевого белка, содержащего активные пептиды коллагена [3]. Согласно «Комплексной программе развития биотехнологии в РФ на период до 2020 г.» продолжение исследований по глубокой переработке вторичного рыбного сырья на специализированные пищевые продукты является актуальным для Калининградского региона [4].

Полученный на предприятии ООО «РосКон» образец сырья от 12 декабря 2017 г. представлял собой замороженную смесь чешуи сардинеллы ауриты (*Sardinella auruta*) с небольшим количеством прирезей мышечной ткани и мелких косточек (рисунок). Сырье, полуфабрикаты и готовая продукция в виде протеиновых порошков подвергались анализу на общий химический состав (табл. 1, 4) стандартными методами: содержание влаги и сухих веществ – высушиванием в сушильном шкафу до постоянной массы при температуре  $103 \pm 2^\circ\text{C}$ ; содержания жира – экстракцией по Сокслету; содержание белка – по методу Кьельдаля; содержание золы – сжиганием в муфельной печи при температуре до  $600^\circ\text{C}$ . Повторность экспериментальных исследований была трехкратной, за окончательный результат принимали среднее арифметическое значение при допускаемом относительном расхождении величин 5 %. Следует отметить, что чешуя сардинеллы ауриты исследовалась в такой форме, в какой она накапливается на предприятиях.



Рисунок 1 – Внешний вид сырого необработанного образца чешуи сардинеллы ауриты

Из табл. 1 видно, что по содержанию белков чешуя является хорошим источником протеиновых добавок коллагеновой природы. Для этой цели промытое сырье помещали в стеклянные банки с прикручивающимися крышками, добавляли подогретую воду в соотношении 1:1 по массе таким образом, чтобы температура смеси достигала 60 °С, после чего вели ступенчатую ферментацию на лабораторном шейкере, помещенном в термоизоляционную камеру.

Таблица 1 – Химический состав чешуи сардинеллы ауриты

Показатель	Содержание	
	г / 100 г сырья	в пересчете на СВ
Сухие вещества	35,07	100,00
Белок	20,15	57,46
Минеральные вещества	14,67	41,83
Жир	2,60	7,41

В качестве ферментных препаратов (ФП) были выбраны два протеолитических ФП датской фирмы «Novozymes», характеристики которых приведены в табл. 2. На первом этапе обработку длинных коллагеновых белков на более короткие пептиды проводили в течение 1 ч под действием эндопептидазы – ФП Protamex, расщепляющей пептидные связи внутри молекулы. На втором этапе вводили ферментный препарат Flavorzyme, представляющий собой смесь экзо- и эндопептидаз, расщепляющих белки по аминокислотным остаткам другого качественного состава: Pro, Gly, Leu, Val, Ala и др., и вели ферментализ еще 1 ч.

Таблица 2 – Характеристика ферментных препаратов «Novozymes»

Показатель	Ферментный препарат	
	Protamex	Flavorzyme
Форма выпуска	Микрогранулярный порошок светло-коричневого цвета	Сиропобразная жидкость темно-коричневого цвета
Продуцент	Комплекс <i>Bacillus</i>	<i>Aspergillus oryzae</i>
Заявленная активность, ед./г	1.5 AU/г (единицы Ансона)	500 LAPU/г (единицы лейцинаминопептидазы)
Оптимум pH	5,5–7,5	5,0-7,0
Оптимум температуры, °С	35-60	50-55

В соответствии с данными табл. 2 процесс ступенчатой ферментации проводился при температуре 55 °С и pH=7 в течение 2 ч. Используемые в эксперименте ФП вносились в систему в количестве, эквивалентном друг другу – 0,05; 0,1; 0,25 % к общей массе сырья и воды. Для получения воспроизводимых результатов проводили два параллельных опыта.

По окончании ферментализации осуществляли инактивацию ферментов при температуре 85 °С в течение 10 мин. После инактивации пробы центрифугировали в течение 15 мин при температуре 25 °С и частоте 4000 об/мин для разделения смеси на плотную (белково-минеральную) и жидкую (протеиновую) фракции. Эффективность (глубину) ферментализации белков чешуи сардинеллы ауриты оценивали по содержанию формольно-титруемого азота (ФТА), сухих веществ (СВ) в протеиновой фракции и уменьшению массы плотного остатка. Показатель ФТА до гидролиза составил 27,26 мг %.

Таблица 3 – Сравнительная оценка ферментализации белков чешуи сардинеллы ауриты под действием различных дозировок комбинации протеолитических ФП

Дозировка ФП Protamex + Flavorzyme, %	ФТА, мг %	СВ, %	Масса высушенного плотного остатка, г
0,05	322,48	6,90	7,80
0,1	332,84	8,03	7,45
0,25	489,76	8,24	7,20

Из данных табл. 3 следует, что наибольшую активность по отношению к белкам чешуи сардинеллы ауриты проявляет комбинация ФП с концентрацией 0,25 % к общей массе сырья и воды, поскольку наблюдался резкий прирост продуктов ферментализации по содержанию ФТА и сухих веществ в ферментализате при одновременном снижении массы плотного (непротидролизованного) остатка. Показатель ФТА при указанной концентрации увеличился в 18 раз по сравнению со значением его в исходном сырье. В сравнении с концентрациями ФП 0,05 и 0,1 % этот же показатель возрос в 1,5 раза.

Жидкую фракцию высушивали в лиофильной сушке Martin Christ Alpha 1-2 LDplus для получения пищевых протеиновых гидролизатов в течение 30 ч при фактической температуре в сушилке минус 50 °С, плотную фракцию – в сушильном шкафу для кормовых целей (табл. 4). Результаты оценки протеиновой фракции представлены в табл. 5. После высушивания все пробы измельчали до порошкообразного состояния. Отмечено, что после ферментализации и высушивания обе фракции одинаково легко и быстро измельчились до мелкого размера частиц (табл. 6).

Таблица 4 – Внешний вид образцов чешуи сардинеллы на различных этапах обработки




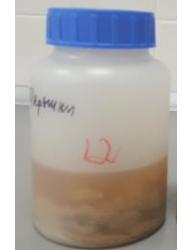


Проба после инактивации ферментов	Жидкая фракция до высушивания	Плотная фракция до высушивания
		
Проба после центрифугирования	Жидкая фракция после высушивания	Плотная фракция после высушивания
		







Таблица 5 – Сравнительные выходы сухих протеиновых гидролизатов при ферментализе чешуи сардинеллы ауриты различными дозировками ФП

Дозировка ФП Protamex + Flavorzyme, %	Масса жидкой фракции после ферментализа, г	Масса жидкой фракции, взятой для лиофилизации, г			Выход сухого гидролизата, %	
		до сушки	после сушки	в пересчете на весь объем жидкой фракции	к массе гидролизата до сушки	от СВ использованного сырья
0,05	118,75	50,00	4,50	10,68	9,00	25,66
0,1	122,00	72,25	7,60	12,83	10,52	29,99
0,25	122,25	44,50	4,85	13,32	10,90	31,08

На основании полученных данных (табл. 5) можно сделать вывод, что выход сухих протеиновых гидролизатов во всех случаях находится в диапазоне 9,00–10,90 % к массе гидролизата до сушки, что равноценно выходу к массе исходного сырья (100 г сырой чешуи) и свидетельствует о переходе сухих веществ чешуи сардинеллы ауриты в усвояемую форму до 31,08 %.

В табл. 6 представлены образцы протеиновых и белково-минеральных добавок, полученных в результате сублимационного и теплового высушивания, которые характеризуются светло-желтым цветом. При органолептической оценке во всех образцах отмечен слабый приятный запах сухой рыбы без посторонних запахов.

Таблица 6 - Образцы протеиновых и белково-минеральных порошков из чешуи сардинеллы

Protamex + Flavorzyme, %	0,05	0,1	0,25
Высушенная жидкая фракция			
Высушенная твердая фракция			

Таким образом, в проведенных исследованиях была показана возможность применения вторичного рыбного сырья, в частности чешуи рыб, для производства сухих протеиновых гидролизатов в качестве источника активных пептидов коллагена и белково-минеральных композиций, которые могут использоваться в животноводстве, аквакультуре и при проведении соответствующих исследований в области безопасности – возможно, в составе пищевых продуктов. Установлено, что наилучшими качественными показателями обладали образцы протеиновых гидролизатов, полученные при воздействии на белки чешуи сардинеллы ауриты комбинации ФП Protamex и Flavorzyme с концентрацией 0,25 % к общей массе сырья и воды. Большой практический интерес представляет продолжение данных исследований по комбинации ферментативного и термического видов гидролиза с целью большего выхода сухих гидролизатов для решения тем самым приоритетных задач.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Агафонова, С. В. Вторичное сырье рыбоперерабатывающих предприятий Калининградской области – источник ценного пищевого жира / С. В. Агафонова // Известия КГТУ. – 2018. – № 49. – С. 69–75.
2. Воробьев, В. И. Переработка коллагенсодержащего рыбного сырья / В. И. Воробьев // Рыбное хозяйство. – 2015. – №. 1. – С. 122–125.
3. Комплексная программа развития биотехнологий в Российской Федерации на период до 2020 года, утвержденная приказом Председателя Правительства РФ № 1853п-П8 от 24 апреля 2012 г.
4. Мезенова, Н. Ю. Инновационное питание спортсменов скоростно-силовой направленности / Н. Ю. Мезенова // Вестник образования и науки Северо-Запада России. – 2017. – Т. 3. – № 4. [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://vestnik-nauki.ru/wp-content/uploads/2017/12/2017-N4-MezenovaNYu.pdf>

## INVESTIGATION OF STEPPED ENZYMATIC HYDROLYSIS OF THE SARDINELLA AURITA SCALES PROTEINS

N. Yu. Mezenova, PhD in Engineering, Associate Professor  
Nataliya.mezenova@klgtu.ru  
Kaliningrad State Technical University

The total chemical composition of *Sardinella auruta* scales was studied. Comparative studies of protein scales enzymatic hydrolysis using different dosages of proteolytic enzymes combination were held. It was established when the concentration of proteolytic enzyme preparations Protamex and Flavorzyme is 0.25 % to the total mass of raw materials and water, the yield of dry protein hydrolyzate in digestible form was 10, 90%.

*fish by-product, scales, enzymatic hydrolyses, Protamex, Flavorzyme, peptides*