

Ключевые слова:
высокотемпературный гидролиз, шпротные отходы, молекулярная масса, фракционный состав, протеины, пептиды

Keywords:
high temperature hydrolysis, sprat waste, molecular weight, fractional composition, proteins, peptides

Исследование протеиновых фракций высокотемпературных гидролизатов из голов копченой кильки

Д-р техн. наук, профессор

О. Я. Мезенова*;

Зам. директора технопарка

В.А. Волков*;

канд. техн. наук, профессор

Л.С. Байдалинова*;

канд. техн. наук, доцент

Н.Ю. Мезенова*;

канд. техн. наук, доцент

С.В. Агафонова*;

Аспирантка **К.А. Казимирова***;

Д-р техн. наук, профессор

В.И. Шендерюк*;

Инженер-биотехнолог

Т. Гримм**

*Калининградский государственный технический университет (ФГБОУ ВО «КГТУ»)

**Научно-производственное биотехнологическое предприятие ANiMOX (Германия)

@ mezenova@klgtu.ru;
vladimir.volkov@klgtu.ru;
larisa.baydalina@klgtu.ru;
lost_13@inbox.ru;
svetlana.agafonova@klgtu.ru;
kazimirova_kat@mail.ru;
kafedratppklgtu@mail.ru;
t.grimm@animox.de

STUDY OF PROTEIN FRACTIONS OF HIGH-TEMPERATURE HYDROLYZATES OBTAINED FROM SMOKED SPRAT HEADS

Mezenova O.Ya., Doctor of Sciences, Professor, **Volkov V.A.**, Deputy Director of Technological Park, **Baydalina L.S.**, PhD, Professor, **Mezenova N.Yu.**, PhD, Associate Professor, **Agafonova S.V.**, PhD, Associate Professor, **Kazimirova K.A.**, postgraduate, **Shenderyuk V.I.**, Doctor of Sciences, Professor - Kaliningrad State Technical University, mezenova@klgtu.ru; vladimir.volkov@klgtu.ru; larisa.baydalina@klgtu.ru; lost_13@inbox.ru; svetlana.agafonova@klgtu.ru; kazimirova_kat@mail.ru; kafedratppklgtu@mail.ru; **Grimm T.** - Research and Production Biotechnology Company ANiMOX, Germany, t.grimm@animox.de

The authors study three fractions obtained as a result of hydrolysis of smoked sprat heads (under temperature of 130°C and presser of 0.25 MPa) – fat, protein water-soluble, and protein-and-mineral ones. Waste from sprat production of two fish canning complexes of the Kaliningrad Region - “RosCon” and “Kolkhoz for the Motherland” - was used as raw material. Hydrolysis was carried out in an aqueous medium in two ways - with preliminary separation of fat and without this operation. The protein fraction was sublimated and its quantitative and qualitative indices were examined - mass yield, solubility, chemical composition and molecular fractional composition of the obtained peptide fractions were determined. The output of sublimated protein fractions is practically independent of the type of raw material and the method of pre-treatment and is 6.4-7.9% of the mass of raw materials. The chemical composition of protein fractions varies widely in terms of fat (1.4–8.3%), minerals (9.8–13.4%) and proteins (72.1–80.2%). The solubility of the peptide fractions ranged from 91-98%. The molecular weight assessment results showed a high content of a low molecular weight fraction of peptides with an MM of less than 10 kDa in all experimental samples (about 38%). This indicates a high digestibility and biological value of the obtained peptide compositions. Sublimated peptide compositions had typical organoleptic characteristics, pleasant aroma and taste of smoked fish.

Одной из основных задач рыбного хозяйства является комплексная переработка рыбного сырья, рациональное использование всех частей рыбы, в том числе, так называемых, непищевых или отходов, остающихся при разделке. Особенно актуальна названная задача в шпротном производстве, так как при выработке консервов «Шпроты в масле» из кильки горячего копчения остаются в значительных количествах копченые головы (20-40% массы сырья). Это биологическое сырье в настоящее время практически не используется, оно утилизируется сжиганием или другими способами, часто недопустимыми. Данная проблема стоит особенно остро на таких крупных предприятиях Калининградской области как рыбоконсервные комплексы ОАО «РосКон» и СПК «За Родину». Она может быть частично решена путем получения и использования протеиновых фракций гидролизатов шпротных голов, представляющих собой коллагенсодержащее рыбное сырье [1].

В головах копченой кильки содержится большое количество полезных веществ: ценные белки со всеми незаменимыми аминокислотами, уникальные жиры с полиненасыщенными жирными кислотами, витамины группы В, микроэлементы, нуклеиновые кислоты, экстрактивные азотистые соединения. Ценный химический состав сырья обогащен копильными компонентами, выполняющими роль консервантов, антиоксидантов, вкусо-ароматических ингредиентов. Эти соединения отличаются друг от друга не только молекулярной массой, структурой молекул, химической активностью, но и способностью придавать сырью те или иные свойства [2].

Биопотенциал рыбных отходов рационально использовать для получения протеиновых добавок, предназначенных для кормов в аквакультуре [3]. Однако, в случае использования копченого сырья, содержащего копильные компоненты, протеиновые гидролизаты целесообразно применять для обогащения низкобелковой пищевой продукции ценными, высоко усвояемыми низкомолекулярными пептидами и аминокислотами [4].

Цель исследования – изучение количественных и качественных характеристик протеиновых сублимированных гидролизатов, полученных при высокотемпературной обработке голов копченой кильки под давлением. Для этого определяли и анализировали массовый выход, растворимость, общий химический состав, органолептические свойства протеиновой фракции, а также фракционный состав пептидов, в зависимости от их молекулярной массы. Последнее дает представление об усвояемости и биологической активности пептидов, позволяет обосновать их использование в составе пищевых продуктов.

Исследования проводили в Центре передовых технологий использования белка кафедры пищевой биотехнологии Калининградского государственного технического университета и в лаборатории биотехнологической фирмы ANiMOX (Берлин). В качестве сырья использовали шпротные головы балтийской кильки, предоставленные ОАО «РосКон» и СПК «За Родину». Сырье было различного сезона вылова, обладало различной жирностью (соответственно – 13,8% и 24,5%). Высокотемпера-

Рассмотрены результаты гидролиза вторичного сырья шпротного производства с применением высокой температуры – 130°C, под давлением 0,25 мПа. Способ позволяет получать из голов копченой кильки три фракции – протеиновую водорастворимую, жировую и белково-минеральную осадочную. В качестве сырья применяли головы копченой кильки двух рыбоконсервных комплексов Калининградской области – ОАО «РосКон» и СПК «Колхоз за Родину». Гидролиз сырья проводили в водной среде двумя способами – с предварительным отделением жира и без этой операции. В результате гидролиза получали три фракции (жировую, протеиновую, белково-минеральную), которые разделяли центрифугированием. Протеиновую фракцию гидролизата сублимировали и исследовали по качественным и количественным показателям.

Определяли массовый выход, растворимость, химический состав и молекулярный фракционный состав полученных пептидных фракций. Выход сублимированных протеиновых фракций практически не зависит от вида сырья и способа предварительной обработки и составляет 6,4-7,9% массы сырья. Химический состав протеиновых фракций широко колеблется по содержанию жира (1,4-8,3%), минеральных веществ (9,8-13,4%) и протеинов (72,1-80,2%). Растворимость пептидных фракций варьировалась в интервале 91-98%. Результаты оценки молекулярной массы показали высокое содержание низкомолекулярной фракции пептидов с ММ менее 10 кДа во всех экспериментальных образцах (около 38%). Это свидетельствует о высокой усвояемости и биологической ценности полученных пептидных композиций. Сублимированные пептидные композиции имели характерные органолептические характеристики, обладали приятными ароматом и вкусом рыбной копчености, были положительно апробированы в рецептурах спортивного питания, суповых кубиков, соусов, печенья.

турный гидролиз сырья проводили в гидролизере-автоклаве при температуре 130°C под давлением 0,25 мПа, при pH 7,0 в течение 60 мин., при скорости вращения мешалки 50 об/мин. Предварительно измельченные головы копченой кильки смешивали с горячей водой с температурой 75-80°C в соотношении 1:1. В некоторых вариантах обработки предварительно отделяли, выделяющийся в горячую воду жир мешающий гидролизному распаду белков и фракционированию образующейся суспензии. Эта операция позволяла также получать дополнительно рыбный жир, обладающий приятным запахом рыбной копчености и высокими показателями качества. Освобожденная от жира рыбноводная смесь после перемешивания помещалась в автоклав для проведения термолиза. После высокотемпературной обработки шпротного сырья содержимое извлекали из термогидролизера и центрифугировали на центрифуге при 3900 об/мин. При этом из гидролизной суспензии образовывалось три фракции: верхняя – жировая, средняя водорастворимая – протеиновая и нижняя осадочная – белково-минеральная. Кантованием все три

фракции отделялись друг от друга и использовали на различные цели.

Целевым настоящим исследованиям подвергали наиболее ценную протеиновую фракцию, представляющую собой композицию из низкомолекулярных пептидов. Данную фракцию первоначально концентрировали на вакуум-выпарном аппарате до содержания сухих веществ около 50%, а затем полностью обезвоживали на сублимационной установке (рис. 1).

Химический состав сырья и сублимированных протеиновых гидролизатов изучали по стандартным методикам, регламентированным в ГОСТ 7636-85. Молекулярный фракционный состав пептидных гидролизатов определяли масс-спектрометрически при разделении их на фракции методом ВЭЖХ/Phenomenex (Yarra ZuSEC-200), при идентификации молекулярной массы (ММ) на приборе UV-Detektor при 214 нм и рН 6,8 в биотехнологической научно-производственной организации ANiMOX (Германия, Берлин).

Общий химический состав, выход и растворимость в воде, полученных протеиновых гидролизатов, как показатели эффективности процесса гидролиза и качества готовой продукции, приведены в таблице 1.

Анализ данных таблицы 1 показывает, что жирность кильки, обусловленная сезоном вылова сырья, а также способ его предварительной обработки перед гидролизом существенно влияют на растворимость в воде полученных протеиновых фракций гидролизатов, а также на содержание в нем протеиновой части. Из средне жирного сырья (жирность 13,8%), предоставленного ОАО «РосКон», получен протеиновый гидролизат с самой низкой растворимостью (90,9%), при этом содержание протеинов в нем самое высокое – 80,2%, при относительно низком содержании минеральных веществ в качестве примесей. При переработке голов копченой кильки высокой жирности (24,5%), предоставленных СПК «За Родину», выход водорастворимой



Рисунок 1. Высокотемпературный гидролизер (верхние фото), сублимационная установка (нижнее левое фото) и центрифуга (нижнее правое фото)

Figure 1. High-temperature hydrolyzer (upper photo), sublimation unit (lower left photo) and centrifuge (lower right photo)

фракции был выше (95,3-98,2%), при этом содержание протеина в протеиновой фракции гидролизатов было ниже, чем в продукте из средне жирной кильки (72,1-77,3%). Способ гидролиза с предварительным отделением жира несколько предпочтительнее при гидролизе жирного сырья, поскольку в данном случае получается наименее жирный протеиновый гидролизат (содержание жира – 1,4%). Важно, что именно примеси жира обуславливают хранимоспособность протеиновых гидролизатов, поскольку жир быстро окисляется с образованием токсичных веществ и появлением неприятных запахов. Ни один из способов гидролиза не обеспечивает полного удаления минеральных веществ из протеиновых гидролизатов, содержание которых составляет около 10% и выше. Однако данные примеси

не влияют на хранимоспособность гидролизатов и могут выполнять полезную физиологическую функцию в организме, являясь источниками кальция и фосфора. Максимальный выход сублимированных протеиновых гидролизатов (7,9%) получен при переработке сырья с относительно пониженной жирностью (13,8%), при этом предусматривалось предварительное удаление жира, мешающего глубокому гидролизу и процессу разделения фракций.

На рисунках 2-3 приведен фракционный состав водорастворимых и общих протеиновых фракций, в зависимости от молекулярной массы (ММ) пептидов, полученных из голов копченой кильки различными способами.

Из данных рисунков 2 и 3 видно, что, независимо от сырья и способа высокотемпературного гидролиза, протеиновая часть гидролизата содержит 90,9-98,2% водорастворимых пептидов, при этом доля пептидов с молекулярной массой менее 100 кДа составляет в водорастворимой фракции 85,0-89,0%, а на долю низкомолекулярных олигопептидов (преимущественно ди- и трипептидов с ММ менее 10 кДа), которые относятся к биологически активным пептидам, приходится 33,6-38,2% всей массы пептидных композиций.

Наиболее высокая доля биологически активных пептидов с ММ менее 10 кДа (38,2%) установлена в протеиновом образце № 1, полученном из средне жирных шпротных голов термогидролизом с предварительным отделением жира. Это позволяет сделать первоначальный вывод о предпочтительности применения данного способа при целевом получении низкомолекулярных пептидов при переработке нежирного и средне жирного рыбного сырья (с содержанием жира не более 20%).

Протеиновые сублимированные композиции, полученные термогидролизом шпротных голов, представляют собой водорастворимые порошки светло-коричневого цвета с легким приятным запахом копчености, характерным вкусом, свойственным слабо подкопченной рыбе. В связи с высокой биологической активностью их рекомендуется употреблять в специализированном питании в качестве источника биологически ак-

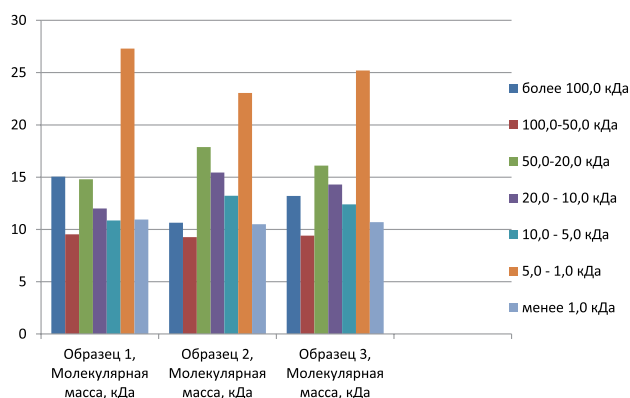


Рисунок 2. Диаграмма массового распределения пептидов различной молекулярной массы по фракциям водорастворимой части протеиновых гидролизатов, полученных высокотемпературным способом под давлением, из голов кильки горячего копчения

Figure 2. Mass distribution diagram of peptides of various molecular weights over fractions of the water-soluble portion of protein hydrolysates obtained by high-temperature method under pressure from hot smoked sprat heads

Таблица 1. Массовый выход, растворимость в воде и содержание основных органических веществ в сублимированных протеиновых гидролизатах, полученных высокотемпературной обработкой голов копченой кильки / **Table 1.** Mass yield, solubility in water, and the content of basic organic substances in sublimated protein hydrolysates obtained by high-temperature treatment of smoked sprat heads

% образца	Образец протеинового гидролизата (предприятие, способ предварительной обработки)	Содержание жира в сырье % массы	Растворимость в воде, % массы	Выход сублимированных гидролизатов, % массы сырья	Воды	Содержание, % массы			
						сухих веществ	жира	минеральных веществ	
1	ОАО «РосКон», с предварительным отделением жира	13,8	90,9	7,9	6,6	93,4	3,4	9,8	80,2
2	СПК «За Родину», с предварительным отделением жира	24,5	98,2	6,7	7,8	92,1	1,4	13,4	77,3
3	ОАО «За Родину», без предварительного отделения жира	24,5	95,3	6,4	6,3	93,7	8,3	13,3	72,1

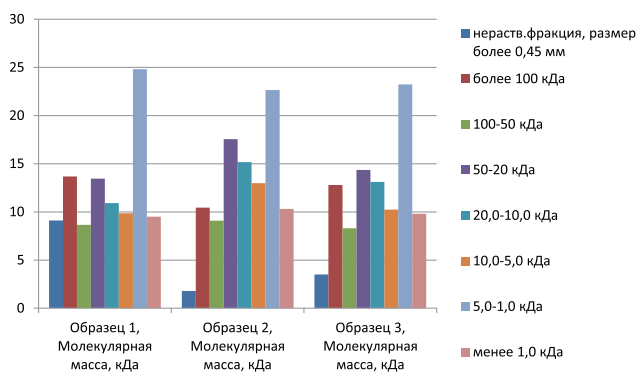


Рисунок 3. Диаграмма массового распределения фракций и молекул пептидов различной молекулярной массы в водорастворимых фракциях протеиновых гидролизатов, полученных высокотемпературным способом под давлением, из голов кильки горячего копчения

Figure 3. Mass distribution diagram of fractions and molecules of peptides of various molecular weights in water-soluble fractions of protein hydrolysates obtained by the high-temperature method under pressure from hot smoked sprat heads

тивных пептидов с полифункциональными свойствами. Известно, что биологически активные пептиды обладают иммуномодулирующими, антиоксидантными, анаболическими и другими физиологическими свойствами. Кроме того, они являются поставщиками в организм ценных пластических аминокислот. При использовании коллагенсодержащего сырья, каким являются головы кильки, в аминокислотном составе белков и, образующихся при гидролизе пептидов преобладают такие аминокислоты, как глицин, пролин и его производные, а также лизин, аргинин, глутамин [5].

Полученные пептидные композиции были успешно апробированы в составе желированного спортивного питания, суповых кубиков, белкового хлеба, томатных соусов, печенья геродиетического назначения (рис. 4).

Обогащенные пищевые изделия имели приятные органолептические характеристики и повышенную пищевую ценность за счет протеиновой составляющей.

ВЫВОД

Результаты исследования высокотемпературного гидролиза вторичного сырья шпротных производств и оценки качества, полученных протеиновых продуктов свидетельствуют о перспективности переработки предложенным способом трудно утилизируемого копченого вторичного рыбного сырья. Применение температуры 130°C в водной среде и последующее фракционирование рыбоводной смеси позволяет получать 8-7% от массы сырья сублимированных низкомолекулярных пептидных композиций (более 90% пептидов имеют ММ менее 100 кДа). Пептидные продукты обладают растворимостью в воде 90% и выше, содержат

72,1-80,2% протеинов, при этом около 38% пептидов имеют молекулярную массу менее 10 кДа, что свидетельствует об их высокой биологической активности. Сублимированные пептидные композиции шпротного происхождения в порошкообразной форме имеют приятные органолептические характеристики, легко растворимы в воде и положительно апробированы в рецептурах спортивного питания, суповых кубиков, соусов, печенья геродиетического назначения.

ЛИТЕРАТУРА И ИСТОЧНИКИ

1. Nagai, T. Isolation of collagen from fish waste material: skin, bone and fins / T. Nagai, N. Suzuki // Food Chemistry. - 2000. - № 68. P. 277-281.
1. Nagai, T. Isolation of collagen from fish waste material: skin, bone and fins / T. Nagai, N. Suzuki // Food Chemistry. - 2000. - № 68. P. 277-281.
2. Биопотенциал вторичного рыбного сырья / О.Я. Мезенова, А. Хелинг, Т. Мерзель // Известия вузов. Пищевая технология, 2018. - № 1. С. 11-18.
2. Biopotencial vtorichnogo rybnogo syr'ya / O.YA. Mezenova, A. Heling, T. Merzel // Izvestiya vuzov. Pishcheyaya tekhnologiya, 2018. - № 1. pp. 11-18.
3. Качественная оценка протеина рыбной муки, используемой в аквакультуре / С.В. Бекетов, А.В. Козлов, М.Н. Прадед, В.А. Климов // Рыбной хозяйство, 2019. - № 6. С. 58-61.
3. Kachestvennaya ocenka proteina rybnoy muki, ispol'zuemoj v akvakulture / S.V. Beketov, A.V. Kozlov, M.N. Praded, V.A. Klimov // Rybnoy hozyajstvo, 2019. - № 6. pp. 58-61.
4. Мезенова, О.Я. Биотехнологические способы получения протеиновых и белково-минеральных добавок из вторичного рыбного сырья копильных производств // Известия вузов. Пищевая технология, 2019. - № 2-3. - С. 68-71.
4. Mezenova, O.YA. Biotekhnologicheskie sposoby polucheniya proteinovyh i belkovo-mineral'nyh dobavok iz vtorichnogo rybnogo syr'ya koptil'nyh proizvodstv // Izvestiya vuzov. Pishcheyaya tekhnologiya, 2019. - № 2-3. - pp. 68-71.
5. Сравнительная оценка способов гидролиза коллагенсодержащего рыбного сырья при получении пептидов и исследование их аминокислотной сбалансированности / О.Я. Мезенова, В.В. Волков, Т. Мерзель, Т. Гримм, С. Кюн, А. Хелинг, Н. Ю. Мезенова // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология, 2018. - №4. С. 83-94.
5. Sravnitel'naya ocenka sposobov gidroliza kollagensoderzhashchego rybnogo syr'ya pri poluchenii peptidov i issledovanie ih aminokislotnoj sbalansirovannosti / O.YA. Mezenova, V.V. Volkov, T. Merzel, T. Grimm, S. Kyun, A. Heling, N. YU. Mezenova // Izvestiya vuzov. Prikladnaya himiya i biotekhnologiya, 2018. - №4. S. 83-94.



Рисунок 4. Экспериментальные образцы пищевых продуктов, обогащенных протеиновыми сублимированными гидролизатами из голов копченой кильки

Figure 4. Experimental food samples enriched with protein freeze-dried hydrolysates from smoked sprat heads