

Оригинальная статья / Original article

УДК 637:664

DOI: <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2020-10-2-314-324>

Ферментативная модификация побочного мясокостного коллагенсодержащего сырья при его переработке

© Н.Ю. Мезенова, С.В. Агафонова, О.Я. Мезенова, Л.С. Байдалинова, В.В. Волков

Калининградский государственный технический университет,
г. Калининград, Российская Федерация

Резюме: Целью исследования являлось изучение процесса экстракции ценных протеиновых водорастворимых веществ из высокоминерализованного мясокостного сырья при гидролизе протеолитическими ферментами. Эксперименты проводили на говяжьих трубчатых и реберных костях с применением ферментов Alcalase 2,5 L, Protamex, Протосубтилин ГЗх. Эффективность гидролиза белков оценивали по накоплению в водном протеиновом экстракте небелкового аминного азота, количество которого устанавливали путем формольного титрования. Оценку химического состава сырья и продуктов гидролиза проводили стандартными физико-химическими методами. Высушивание гидролизованных протеиновых фракций осуществляли на лиофильной установке при температуре конденсатора -55°C . Сушку осадочной белково-минеральной фракции проводили конвекционным способом при 60°C . Установлен общий химический состав сырья и протеиновых гидролизатов. Показано, что ферментоллиз в водной среде с предварительным отделением жира и последующим разделением фракций позволяет получать низкомолекулярные водорастворимые пептиды и белково-минеральные нерастворимые композиции, а также жировые продукты в количестве 13,3–14,4 % от массы сырья. Выход протеинов по содержанию сухих веществ в водорастворимых сублимированных продуктах составил 6,1–7,9 % в зависимости от вида фермента и условий гидролиза. Основная масса протеинов сырья осаждается вместе с минеральными веществами при ферментоллизе. Содержание сухих веществ в плотных осадках составило 66,5–73,8 %. Рекомендовано применять ферментоллиз мясокостного сырья для предварительной обработки при последующем высокотемпературном гидролизе. Протеиновые продукты, полученные при ферментативной модификации мясокостного сырья, рекомендованы к использованию в составе кормовых добавок, микробиологических сред и удобрений, кормов для аквакультуры. Для этого необходимо изучить их аминокислотный состав и провести биологические испытания. Выделенный жир может являться сырьем для ряда жировых продуктов (маргарин, спред, мыло).

Ключевые слова: мясокостное побочное сырье, коллаген, ферментативный гидролиз, сухие вещества, водорастворимые пептиды, аминный азот

Благодарность: Исследование выполнено при финансовой поддержке Фонда содействия инновациям по программе «СТАРТ-1», НИОКР по теме: «Разработка технологии по переработке вторичного мясокостного сырья и получение экспериментальных образцов функциональных компонентов протеинового, липидного и белково-минерального составов» (договор №3209ГС/148676 от 03.09.2019, грант № АААА-А19-119101790069-4).

Информация о статье: Дата поступления 27 февраля 2019 г.; дата принятия к печати 29 мая 2020 г.; дата онлайн-размещения 30 июня 2020 г.

Для цитирования: Мезенова Н.Ю., Агафонова С.В., Мезенова О.Я., Байдалинова Л.С., Волков В.В. Ферментативная модификация побочного мясокостного коллагенсодержащего сырья при его переработке. *Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология*. 2020. Т. 10. N 2. С. 314–324. <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2020-10-2-314-324>

The use of enzymatic modification in recycling of meat and bone collagen-containing byproducts

Natalia Yu. Mezenova, Svetlana V. Agafonova, Olga Ya. Mezenova,
Larisa S. Baydalina, Vladimir V. Volkov

Kaliningrad State Technical University, Kaliningrad, Russian Federation

Abstract: The objective of this research was to study the process of extraction of valuable protein water-soluble substances from highly mineralized meat and bone raw materials during hydrolysis by proteolytic enzymes. The experiments were carried out on beef tubular and costal bones using enzymes Alcalase 2.5 L, Protamex, Protosubtilin G3x. The efficiency of protein hydrolysis was evaluated by the accumulation of non-protein amino nitrogen in the aqueous protein extract, the amount of which was determined by formol titration. The chemical composition of raw materials and hydrolysis products was evaluated by standard physico-chemical methods. The drying of hydrolyzed protein fractions was carried out on a lyophilic freeze dryer at a condenser temperature of -55°C . Drying of the sedimentary protein-mineral fraction was carried out by convection method at $60^{\text{about}}\text{C}$. The general chemical composition of raw materials and protein hydrolysates is established. It was shown that fermentolysis in an aqueous medium with preliminary separation of fat and subsequent separation of fractions makes it possible to obtain low molecular weight water-soluble peptides and protein-mineral insoluble compositions, as well as fat products in the amount of 13.3–14.4 % of raw materials by weight. The yield of proteins by the content of solid products in water-soluble freeze-dried products was 6.1–7.9 %, depending on the type of enzyme and hydrolysis conditions. The bulk of the raw material's protein mass is precipitated together with mineral substances during fermentolysis. The solids content in dense sediments was 66.5–73.8 %. It is recommended to use the fermentolysis of meat and bone raw materials for pre-treatment in subsequent high-temperature hydrolysis. Protein products obtained by enzymatic modification of meat and bone raw materials are recommended for use as part of feed supplements, microbiological media and fertilizers, as well as feed for aquaculture. To accomplish that, it is necessary to study their amino acid composition and conduct biological tests. The extracted fat may also serve as a raw material for a number of fat products (margarine, spreads, soap).

Keywords: meat and bone byproduct, collagen, enzymatic hydrolysis, solids, water-soluble peptides, amine nitrogen

Acknowledgments: The study was carried out with the financial support of the Foundation for the Promotion of Innovation under the START-1 program, R&D on the topic: "Development of technology for processing secondary meat and bone raw materials and obtaining experimental samples of the functional components of protein, lipid and protein-mineral compositions" (contract no. 3209ГС1/48676 03 September 2019, grant no. AAAA-A19-119101790069-4).

Information about the article: Received February 27, 2019; accepted for publication May 29, 2020; available online June 30, 2020.

For citation: Mezenova NYu, Agafonova SV, Mezenova OYa, Baydalina LS, Volkov VV. The use of enzymatic modification in recycling of meat and bone collagen-containing byproducts. *Izvestiya Vuzov. Prikladnaya Khimiya i Biotekhnologiya* = Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology. 2020;10(2):314–324. (In Russian) <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2020-10-2-314-324>

ВВЕДЕНИЕ

Переработка животноводческого сырья неизбежно связана с образованием побочного сырья (кости, костный шрот, мослы, обрезь, головы, соединительные ткани, лапы и перо птицы и др.) [1, 2]. Ввиду низкого пищевого качества, трудоемкости переработки и недостаточной востребованности особую проблему представляет использование высокоминерализованного мясокостного сырья крупного рогатого скота (КРС), к которому относятся реберные и трубчатые кости с кулаками и кост-

ным мозгом [3, 4]. Однако мясокостное сырье имеет высокий биопотенциал, обусловленный наличием в его составе такого ценного белка, как коллаген и его специфических аминокислот (глицина, пролина, оксипролина, глутаминовой кислоты и др.), а также кальция, фосфора и жирных кислот.

Высокоминерализованный коллаген, составляющий основу соединительной ткани организма млекопитающих (отсутствует у растений, бактерий, вирусов, простейших и грибов), обеспечивает ее прочность и эластичность

благодаря структурным единицам – тропоколлагенам. Масса коллагена может достигать 50 % веса костной ткани [5, 6]. Перевод его в растворимое состояние ферментативным путем позволит получать ценные низкомолекулярные пептиды и аминокислоты заданного состава, биологически активные пептиды, востребованные во многих отраслях, в том числе при производстве пищевых, кормовых и микробиологических продуктов [7, 8]. При переработке данного сырья представляется перспективным применение процесса гидролитического распада костных тканей под действием протеолитических ферментов коллагеназной специфичности, который позволит не только получать полезные протеиновые продукты, но и будет способствовать комплексной переработке сырья с выделением минеральных и жировых фракций [9–12].

Целью настоящей работы являлось исследование процесса биотехнологической обработки мясокостного побочного сырья различными протеолитическими ферментами с установлением степени экстракции водорастворимых низкомолекулярных протеиновых фракций и перспективности получения ценных протеиновых, минеральных и жировых продуктов.

Для достижения этой цели необходимо было решить следующие задачи: исследовать химический состав сырья, обосновать выбор наиболее эффективных ферментов для перевода коллагеновых белков в растворимое состояние, установить степень экстракции в воду продуктов гидролиза, определить перспективность ферментализации при переработке мясокостного сырья с целью эффективного использования полученных продуктов гидролиза.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Исследования проводили в Центре передовых технологий использования белков Калининградского государственного технического университета. В качестве основного сырья использовали кости трубчатые с кулаками и ребра КРС (Голубевский мясокомбинат «ЛЭАР», Калининградская область) и кости реберные говяжьи (ООО «МК «Залесье»»).

Содержание влаги, белков, жира и золы определяли по государственным стандартам 9793-2016, 25011-2017, 23042-2015, 31727-2012 соответственно. Массовую долю коллагена в сырье определяли по ГОСТ 33692-2015. Содержание кальция и фосфора оценивали по ГОСТ 55573-2013 и 9794-2015. Степень гидролиза протеинов сырья оценивали по накоплению водорастворимого аминного азота по ГОСТ 7636-85, кислотности тканей и содержанию сухих веществ (СВ) в водорастворимой фракции, а также по массе в гидролизной си-

стеме нерастворимого плотного остатка и содержанию в нем сухих веществ.

Для ферментативного распада коллагеновых тканей использовали протеолитические ферменты коллагеназной специфичности: «Alcalase 2,5 L» и «Protamex» (активность 2,5 и 1,5 АУ/г соответственно; эндопептидазы; производитель Novozymes, Дания), «Протосубтилин ГЗх» (активность 70 ед/г, экзопептидаза, ООО ПО «Сиббиофарм», Россия), которые эффективно гидролизуют коллагеновые рыбные ткани [12, 13]. Ферментацию проводили при варьировании дозировки ферментов от 1 до 3 % к массе сырья и продолжительности процесса от 180 до 360 мин при температуре 50 °С и pH=7. На втором этапе исследовали глубину гидролиза тканей при комбинировании ферментов (эндо- и экзопептидаз) при дозировках 0,5, 1 и 2 % к массе сырья в течение 90 и 120 мин. Параллельно проводили контрольные эксперименты с пробами без добавления ферментов. По окончании ферментализации пробы выдерживали при температуре 90 °С в течение 15 мин для инактивирования ферментов. Далее пробы центрифугировали в течение 15 мин при температуре 40 °С и частоте 4000 об./мин для разделения смеси на плотную (белково-минеральную) и жидкую (протеиновую) фракции.

Для проведения экспериментов 100 г измельченного сырья помещали в герметичные стеклянные банки, смешивали с подогретой водой в соотношении 1:1 таким образом, чтобы температура смеси достигала 50 °С, добавляли фермент или композицию ферментов и проводили ферментализацию в шуттель-аппарате при автоматическом встряхивании смеси и поддержании заданной температуры. Поскольку в трубчатых костях содержится повышенное количество костного мозга и жира, его предварительно удаляли из системы, получая дополнительно полезный продукт. Для обезжиривания измельченное сырье смешивали с горячей водой (80–85 °С), выдерживали 30 мин и отделяли жир с помощью центрифугирования.

После ферментализации жидкие водорастворимые фракции лиофильно высушивали в течение 30 ч при температуре в конденсаторе -55 °С в сублимационной сушильной установке Martin Christ Alpha 1-2 LDplus до содержания влаги в продукте около 6 %, получая протеиново-пептидные добавки. Непрогидролизованый осадок, содержащий нерастворимые белки и минеральные вещества, высушивали в сушильном шкафу конвекционным способом при температуре 60 °С до содержания влаги не более 8 %, затем тонко измельчали [14].

Математическую обработку полученных данных осуществляли с применением методов математической статистики при доверительной

вероятности вывода 95 % с помощью программ Microsoft Office.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Характеристика общего химического состава исследованного мясокостного сырья приведена в табл. 1.

Из данных, приведенных в табл. 1, видно, что протеина содержится больше в трубчатых костях (29,7 %), чем в реберных (22,8 %). При этом массовая доля коллагена в обоих видах сырья достаточно высока и составляет соответственно 80,8 и 93 % массы белка. Следует отметить повышенную жирность сырья (16,1 и 18,8 %), что мешает извлечению протеиновой фракции. Поэтому перед ферментололизом необходимо предварительное удаление жира. Это позволит сохранить все его полезные свойства, избежав негативного воздействия ферментов. Путем обработки горячей водой и отделения выделившегося жира центрифугированием получали, в зависимости от вида сырья, жировые фракции в количестве соответственно 13,3 и 14,4 % от массы сырья. Высокое содержание минеральных веществ в исследованном сырье – 33,9–36,2 % (см. табл. 1) свидетельствует как о его высокой прочности, так и значительном минеральном потенциале, в том числе по содержанию кальция и фосфора (табл. 2).

Из данных табл. 2 следует, что говяжьи трубчатые кости и ребра являются хорошим источником кальция (15,1–16,6 %) и фосфора (7,5–6,9 %), при этом массовое соотношение данных металлов – 1:0,5 и 1:0,4 соответственно, приближено к рекомендуемому (1:0,8) для питания (МР 2.3.1.2432-08) Это обуславливает

рациональность извлечения из говяжьего мясокостного сырья данных микроэлементов и использования их в качестве минеральных добавок [15–17].

В табл. 3 приведены характеристика процесса и показатели глубины гидролиза реберного мясокостного сырья в водной среде, проведенного с применением различных протеолитических ферментов и их комбинаций, при этом во всех экспериментах масса добавляемой воды составила 100 г на 100 г массы сырья, то есть соотношение воды и сырья 1:1.

Из данных, представленных в табл. 3, можно сделать вывод о сложном характере ферментативного воздействия на ткани ребер говяжьих в зависимости от применяемого фермента (или композиции ферментов) и его количества, а также продолжительности процесса, влияющих на характер расщепления протеинов. О глубине гидролиза белков наилучшим образом свидетельствуют значения содержания аминного азота (АА) в водорастворимом протеиновом гидролизате, которые прямо коррелируют с массовой долей в нем сухих веществ, его кислотностью и имеют обратную пропорциональную зависимость от массы осадка и содержания в нем сухих веществ. Следует отметить, что данные показатели растут с увеличением дозировки фермента от 1 до 3 %, но их прирост незначителен в диапазоне 2–3 %. Наилучшие результаты по глубине гидролиза с учетом количественных значений всех показателей отмечены при применении индивидуальных ферментов Alcalase 2,5 L (2 %, 360 мин, АА = 414,4 мг/100 г) и Протосубтилина (3 %, 360 мин, АА = 422,2 мг/100 г).

Таблица 1

Общий химический состав исследованного мясокостного сырья, %

Table 1

General chemical composition of the studied meat and bone raw materials, %

Дата проведения исследования	Сырье и характер его измельчения	Сухие вещества	Влага	Жир	Протеин	Коллаген	Минеральные вещества
22.10.2019 г.	Ребра говяжьи, тонкое измельчение	75,11±0,15	24,89±0,14	16,10±0,08	22,82±0,17	21,18±0,12	36,20±0,14
18.09.2019 г.	Кости трубчатые говяжьи с кулаками, крупное измельчение	82,43±0,16	17,57±0,11	18,83±0,09	29,67±0,18	24,07±0,10	33,83±0,13

Таблица 2

Содержание кальция и фосфора в мясокостном сырье

Table 2

Content of calcium and phosphorus in meat and bone raw materials

Сырье	Содержание, % массы сырья	
	кальция	фосфора
Кости трубчатые говяжьи с кулаками	16,61±0,03	7,52±0,06
Ребра говяжьи	15,12±0,04	6,9±0,05

Таблица 3

Условия и результаты ферментативного гидролиза ребер говяжьих протеолитическими ферментами и их комплексами

Table 3

Conditions and results of enzymatic hydrolysis of beef ribs with proteolytic enzymes and their complexes

Номер эксперимента	Фермент / продолжительность гидролиза, мин	Количество фермента, % массы сырья, (ед. активности)	Характеристика водорастворимого протеинового гидролизата				Белково-минеральный остаток	
			Масса, г	Сухие вещества, %	АА, мг/100 г	Кислотность, % уксусной кислоты	Масса, г	Сухие вещества, %
<i>Ферментативный гидролиз индивидуальными ферментами</i>								
1	Alcalase / 180	0 (0)	50,51±0,21	1,79±0,01	42,32±0,11	0,30±0,01	143,52±0,21	45,24±0,18
		1 (2,5 AU/g)	91,50±0,16	6,68±0,04	326,2±1,12	4,20±0,02	105,53±0,24	38,07±0,13
		2 (5 AU/g)	87,55±0,22	6,90±0,03	344,4±1,23	5,22±0,02	107,54±0,19	38,23±0,14
	Alcalase / 360	0 (0)	61,53±0,18	1,99±0,02	47,6±1,08	0,24±0,01	130,07±0,22	47,32±0,16
		1 (2,5 AU/g)	90,05±0,19	6,96±0,03	393,4±1,34	3,06±0,02	104,01±0,21	30,21±0,12
		2 (5 AU/g)	92,12±0,17	7,32±0,02	414,4±2,03	3,84±0,02	104,03±0,22	29,14±0,13
2	Протосубтилин / 180	0 (0)	51,04±0,09	1,53±0,02	43,4±0,09	0,24±0,01	151,64±0,23	49,65±0,18
		1 (70 ед/г)	74,52±0,21	7,67±0,03	331,8±1,34	3,32±0,03	124,62±0,32	61,36±0,21
		2 (140 ед/г)	83,14±0,17	8,62±0,03	347,2±1,16	3,68±0,04	115,94±0,23	62,13±0,30
	Протосубтилин / 360	0 (0)	58,14±0,16	1,88±0,02	51,8±1,17	0,27±0,01	140,43±0,19	52,50±0,14
		1 (70 ед/г)	82,63±0,21	6,27±0,03	343,0±1,05	2,34±0,03	115,45±0,16	63,91±0,15
		2 (140 ед/г)	90,11±0,21	7,01±0,02	370,6±1,01	3,63±0,02	110,73±0,17	65,63±0,09
3	Protamex / 180	0 (0)	55,03±0,12	1,85±0,02	42,0±1,15	0,24±0,02	142,01±0,16	52,87±0,12
		1 (1,5 AU/g)	88,01±0,18	8,00±0,03	249,2±1,19	3,00±0,03	109,04±0,11	65,42±0,13
		2 (3,0 AU/g)	91,05±0,18	9,96±0,02	278,6±2,02	3,80±0,02	107,06±0,14	65,55±0,11
	Protamex / 360	0 (0)	57,06±0,09	1,73±0,01	130,4±2,01	0,24±0,01	140,04±0,22	52,6±0,12
		1 (1,5 AU/g)	86,57±0,22	8,10±0,03	330,4±1,24	2,40±0,02	112,52±0,13	65,7±0,09
		2 (3,0 AU/g)	90,03±0,11	8,03±0,02	292,6±1,19	3,18±0,03	110,02±0,19	66,5±0,21
4	Alcalase / 90 + Протосубтилин / 90	0/0 (0/0)	54,33±0,19	1,82±0,01	39,21±0,09	0,06±0,01	141,91±0,19	52,23±0,14
		0,5/0,5 (1,25 AU/g / 35 ед/г)	91,22±0,22	7,54±0,02	249,23±1,20	1,98±0,02	107,53±0,23	67,51±0,18
		1/1 (2,5 AU/g / 70 ед/г)	85,45±0,17	7,66±0,03	281,04±1,19	2,22±0,03	114,14±0,22	64,7±0,20
	Алкалаза / 120 + Потосубтилин / 120	0/0 (0/0)	59,05±0,12	2,15±0,02	49,02±0,91	0,06±0,01	138,42±0,19	51,6±0,13
		0,5/0,5 (1,25 AU/g / 35 ед/г)	85,43±0,23	7,83±0,03	267,46±1,22	2,10±0,03	118,11±0,14	63,8±0,16
		1/1 (2,5 AU/g / 70 ед/г)	90,66±0,21	8,27±0,03	289,31±1,92	3,06±0,03	108,93±0,12	65,5±0,11
5	Protamex / 90 + Протосубтилин / 90	0/0 (0/0)	68,93±0,15	1,73±0,02	54,670,91±	0,24±0,02	129,46±0,11	56,1±0,12
		0,5/0,5 (0,75 AU/g / 35 ед/г)	92,72±0,21	6,43±0,03	183,48±1,19	2,60±0,03	104,45±0,08	68,6±0,17
		1/1 (1,5 AU/g / 70 ед/г)	96,06±0,19	7,08±0,03	205,83±2,07	2,78±0,03	100,02±0,09	67,3±0,18
	Протосубтилин / 120 + Потосубтилин / 120	0/0 (0/0)	72,63±0,18	1,85±0,02	60,28±0,86	0,18±0,02	126,82±0,18	55,8±0,13
		0,5/0,5 (0,75 AU/g / 35 ед/г)	99,42±0,25	6,47±0,03	212,82±1,19	2,71±0,03	99,440,11±	67,6±0,17
		1/1 (1,5 AU/g / 70 ед/г)	102,01±0,26	7,55±0,03	243,652,03±	4,13±0,03	96,72±0,09	68,3±0,14
		2/2 (3 AU/g / 140 ед/г)	96,52±0,18	8,22±0,03	245,032,11±	4,29±0,03	103,62±0,16	67,8±0,09

В то же время при обработке ферментами в течение 360 мин в образцах появлялись посторонние запахи (аммиачный, жженный и др.), что свидетельствует о чрезмерной продолжительности процесса и рациональности его проведения в течение 180 мин в обоих случаях, поскольку количественные значения АА отличаются на 4,3 и 18,6 % соответственно при дозировке 2 % (344,4 и 337,4 мг/100 г соответственно). Не показало своих преимуществ по глубине гидролиза сочетание ферментов при различных их дозировках и продолжительности процесса. В данных экспериментах, как следует из табл. 3, показатели АА были на уровне 249,2–306,6 мг/100 г, наилучшей композицией можно считать Alcalase + Протосубтилин при последовательном воздействии 90 + 90 мин. А при воздействии в течение общей продолжительности процесса 180 мин значения АА оказались ниже, чем при использовании индивидуальных ферментов в течение 180 мин при дозировке 1 %.

Результаты сравнительных экспериментов по выбору наиболее эффективных ферментов для гидролиза костей трубчатых говяжьих приведены в табл. 4.

Из данных табл. 4 следует, что при обработке ферментами костей трубчатых говяжьих гидролиз белков идет значительно слабее, чем ребер (см. табл. 3), что объясняется повышен-

ной минерализованностью данного сырья. На первой стадии (90 мин) наибольший прирост АА наблюдался при использовании фермента Alcalase (196,0–324,8 мг/100 г). Увеличение дозировки ферментов до 2,0 % к массе сырья способствовало увеличению продуктов гидролиза на 63–81 %. Дальнейшее увеличение дозировки ферментов до 3 % нецелесообразно ввиду технологической и экономической неэффективности, особенно при использовании фермента Protamex (наиболее дорогой и наименее эффективный). При использовании композиций ферментов на первой стадии процесса (90 мин) также более эффективным является фермент Alcalase, особенно при дозировке 0,5 %. При обработке в течение 120 мин, когда в реакционную смесь добавляется Протосубтилин ГЗх, небольшой прирост АА фиксируется при общей дозировке ферментов до 2,0 %, но полученный эффект гидролиза от суммарного воздействия ферментов не достигает уровня индивидуального действия фермента Alcalase.

О степени экстракции растворенных протеинов в водную среду судили по содержанию сухих веществ в сублимированных протеиновых гидролизатах и высушенных плотных непрогидролизированных остатках (осадках), отнесенных к содержанию сухих веществ в сырье (табл. 5).

Таблица 4

Содержание аминного азота при воздействии индивидуальных и комплексных протеолитических ферментов на кости трубчатые говяжьи в водной среде при гидромодуле 1 : 1 и температуре 50 °С

Table 4

Amine nitrogen in tubular beef bones treated by individual and complex proteolytic enzymes in a water module of 1 : 1 and a temperature of 50 °C

Номер эксперимента	Продолжительность воздействия, мин	Фермент	Доза фермента, % к массе сырья			
			0 (контроль)	1,0	2,0	3,0
<i>Ферментативный гидролиз индивидуальными ферментами</i>						
1	180	Alcalase	21,31±0,02	147,02±1,12	156,81±1,12	218,41±1,13
2		Protamex	14,03±0,03	232,43±1,09	312,24±1,20	282,8±1,16
3		Протосубтилин	15,42±0,03	224,02±1,11	182,81±1,22	175,03±1,12
4	360	Alcalase	18,21±0,02	198,81±1,15	289,82±1,19	175,02±1,19
5		Protamex	15,44±0,01	211,44±1,08	310,82±1,20	274,42±1,17
6		Протосубтилин	15,51±0,01	141,42±1,06	148,44±1,17	238,01±1,19
<i>Ферментативный гидролиз комплексными ферментами</i>						
7	90 + 90	Alcalase + Протосубтилин	11,91±0,01	196,01±2,02	161,04±1,18	324,81±2,07
8		Protamex + Протосубтилин	9,82±0,02	133,02±2,01	189,04±1,21	194,64±1,21
9	120 + 120	Alcalase + Протосубтилин	5,63±0,01	201,62±1,19	173,61±1,17	217,03±1,18
10		Protamex + Протосубтилин	5,62±0,1	134,42±1,14	156,82±1,15	215,62±1,16

Таблица 5

Степень извлечения сухих веществ в водорастворимые протеиновые гидролизаты и их остаточное содержание в белково-минеральных осадках (сухие формы) при ферментации различными ферментами ребер говяжьих

Table 5

Solids extraction into water-soluble protein hydrolysates and their residual content in protein-mineral sediments (dry forms) during fermentolysis by various enzymes of beef ribs

Номер эксперимента (табл. 3)	Ферменты	Продолжительность гидролиза, мин	Целевые продукты гидролиза (высушенные формы)	Степень извлечения сухих веществ, % к массе сырья, в продукты гидролиза при дозировках фермента, % массы сырья			
				0	1,0	2,0	3,0
<i>Ферментативный гидролиз ребер говяжьих протеолитическими ферментами</i>							
1	Alcalase	180	Гидролизат Плотный остаток	0,91±0,01 79,62±0,12	6,11±0,06 70,43 ±0,24	6,45±0,07 68,91±0,19	– –
		360	Гидролизат Плотный остаток	1,22±0,01 78,52±0,08	6,3±0,07 72,61±0,07	6,7±0,05 71,03±0,05	– –
2	Протосуб- тилин	180	Гидролизат Плотный остаток	1,09±0,04 78,21±0,16	5,74±0,06 73,32±0,17	7,22±0,03 72,01±0,15	7,82±0,05 68,61±0,12
		360	Гидролизат Плотный остаток	0,78±0,01 77,74±0,11	5,22±0,03 73,81±0,13	7,03±0,04 70,62±0,15	7,73±0,08 69,21±0,12
3	Protamex	180	Гидролизат Плотный остаток	1,02±0,01 78,92±0,12	7,04±0,05 70,33±0,13	9,03±0,08 68,12±0,09	9,12±0,07 67,14±0,14
		360	Гидролизат Плотный остаток	0,99±0,01 78,61±0,12	7,14±0,04 69,92±0,13	7,25±0,03 68,24±0,09	9,82±0,04 66,51±0,11
<i>Ферментативный гидролиз ребер говяжьих комплексами протеолитических ферментов</i>							
4	Alcalase	90	Гидролизат Плотный осадок	0,99±0,01 78,02±0,11	6,6±0,04 70,63±0,09	6,9±0,04 69,81±0,15	7,9±0,05 68,73±0,13
	Протосуб- тилин	120	Гидролизат Плотный осадок	1,25±0,02 77,4±0,12	6,73±0,06 75,3±0,13	7,54±0,05 71,3±0,09	7,22±0,05 73,2±0,10
5	Protamex	90	Гидролизат Плотный осадок	1,19±0,01 78,6±0,13	5,96±0,04 71,4±0,15	6,8±0,04 67,3±0,09	7,8±0,05 70,3±0,11
	Протосуб- тилин	120	Гидролизат Плотный осадок	1,34±0,02 78,3±0,13	6,4±0,04 70,2±0,14	7,7±0,05 68,0±0,11	7,9±0,06 67,1±0,12

Из данных табл. 5 видно, что степень экстракции сухих веществ (в основном протеинового характера) в сублимированный водный гидролизат при ферментации ребер говяжьих, определенная относительно их содержания в сырье, составляет 6,1–7,9 % в зависимости от вида фермента (или их композиции), его дозировки и продолжительности воздействия. При этом увеличение дозировки ферментов и продолжительности существенно не влияет на этот показатель. Практически весь протеиновый материал (вместе с минеральными веществами) осаждается в плотный остаток, о чем свидетельствуют высокие значения в нем показателя сухих веществ (66,5–73,8 %). Данный факт свидетельствует о прочности коллагеновых белков исследованного сырья, их относительной устойчивости к ферментативному гидролизу, так как большая часть их не перешла в растворенное состояние при всех исследованных условиях обработки [1–4, 12].

Подобные результаты по выходу сухих веществ были получены при ферментации трубчатых говяжьих костей: степень экстракции сухих веществ в сублимированный гидролизат составила от 5,4 до 7,1 %, при этом в плотном остатке их содержание составило от 68,4 до 75,8 % их первоначального уровня.

Результаты проведенных исследований показывают, что при ферментативной обработке высокоминерализованного коллагенсодержащего мясокостного сырья наиболее эффективно применение фермента Alcalase 2,5 L как самостоятельно, так и в комбинации с Протосубтилином ГЗх при дозировке не более 0,5–1 % к массе сырья. При этом возможно получение двух протеиновых продуктов: первого – в виде водорастворимого сублимированного протеинового материала, второго – в виде нерастворимого белково-минерального тонко измельченного порошка. Оба продукта могут найти применение в промышленности

как источники ценных пептидов и протеино-минеральных комплексов [18, 19]. Дополнительным востребованным продуктом является костный жир, масса которого при описанном способе переработки побочного мясокостного сырья составила 13,3–14,4 %.

Результаты экспериментов показывают, что ферментативная гидролизная технология как самостоятельный способ переработки мясокостного сырья недостаточно эффективна для полного извлечения протеиновых веществ. Ферментализ можно рекомендовать в качестве подготовительного процесса в комбинированной безотходной технологии переработки коллагенсодержащего сырья [9, 12]. Для этого целесообразно после ферментализа проводить гидролиз с применением высоких температур при повышенном давлении, что обеспечит глубокую деградацию высокоминерализованных коллагеновых тканей и наиболее полный экстракционный выход протеиновых веществ [12]. Для увеличения степени гидролиза возможен также вариант применения ферментализа после термической обработки мясокостного сырья. Такая предобработка облегчит доступ протеаз к субстрату и позволит повысить эффективность гидролиза.

Ферментативная модификация мясокостного сырья позволяет получать протеиновые продукты, которые могут быть использованы в составе кормовых добавок, микробиологических сред, биоудобрений, кормов для аквакультур. Однако это требует более детального изучения аминокислотного состава продуктов и проведения специальных биологических испытаний. Выделенный жир может найти применение в технологии жировых и жиросодер-

жащих продуктов (маргарин, спред, мыло и др.) [3, 9, 10, 19, 20].

ВЫВОДЫ

1. Установлен общий химический состав мясокостного побочного сырья, свидетельствующий о его высоком биопотенциале по содержанию протеинов (22,8–29,7 %), коллагена (80,8–93,0 % массы протеинов), жиров (16,1–18,8 %) и минеральных веществ (33,9–36,2 %), которые целесообразно извлекать с применением биотехнологических ферментативных приемов.

2. Обоснован выбор наиболее эффективных протеолитических ферментов, обеспечивающих перевод коллагеновых белков сырья в растворимое состояние и получение сублимированных пептидов в количестве 7 % массы сырья и выше (фермент Alcalase 2,5 L при индивидуальном и комбинированном применении с Протосубтилином Г3х при рациональных дозировках 0,5–1 % к массе сырья).

3. Ферментализ мясокостного сырья протеолитическими ферментами может быть рекомендован для применения в комбинированной технологии гидролизной переработки мясокостного сырья высокотемпературным способом в качестве подготовительной операции или после его термической обработки.

4. Продукты ферментативной обработки мясокостного сырья могут быть использованы в составе кормовых и микробиологических продуктов, биоудобрений, кормов для аквакультуры при условии изучения их аминокислотного состава и проведения специальных биологических испытаний.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Shchekotova A.V., Khamagaeva I.S., Tsyrenov V.Zh., Darbakova N.V., Khazagaeva S.N. Biotechnological processing procedures of collagen-containing raw materials for creation of functional foods // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2019. Т. 9. № 2. С. 250–259. <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2019-9-2-250-259>

2. Глотова И.А., Литовкин А.Н. Проблемы и перспективы переработки вторичных продуктов убоя птицы // Технологии и товароведение сельскохозяйственной продукции. 2013. № 1. С. 7–12.

3. Литовкин А.Н., Глотова И.А., Кривцова О.Ю. Вторичные продукты убоя птицы как сырьё для функциональных препаратов животных белков // Современные наукоемкие технологии. 2014. № 5–1. С. 189.

4. Глотова И.А., Галочкина Н.А., Болтыхов Ю.В. Функциональные коллагенсодержащие субстанции на основе вторичных продуктов животноводства // Известия высших учебных

заведений. Пищевая технология. 2012. № 4 (328). С. 16–19.

5. Глотова И.А., Ряжских В.И., Галочкина Н.А., Макаркина Е.Н., Галочкин М.Н. Получение функциональных дисперсных систем на основе коллагеновых белков: формализованный подход к описанию тепло-массообменных процессов // Фундаментальные исследования. 2012. № 11-20. С. 383–388.

6. Глотова И.А., Литовкин А.Н. Переработка голов и ног птицы с получением пищевых модулей // Мясная индустрия. 2016. № 6. С. 48–50.

7. Asyakina L., Babich O., Dolganuk V., Suhikh S. Methods of production and purification of biologically active peptides // Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences. 2016. Vol. 7. Issue 4. P. 2415–2422.

8. Prosekov A., Babich O., Kriger O., Ivanova S., Pavsky V., Sukhikh S., et al. Functional properties of the enzyme-modified protein from oat bran // Food Bioscience. 2018. Vol. 24. P. 46–49.

<https://doi.org/10.1016/j.fbio.2018.05.003>

9. Фисинин В.И., Исмаилова Д.Ю., Волик В.Г., Лукашенко В.С., Салеева Ч.П. Глубокая переработка вторичных продуктов птицеводства для разных направлений исследования (обзор) // Сельскохозяйственная биология. 2017. Т. 52. N 6. С. 1105–1115. <https://doi.org/10.15389/agrobiology.2017.6.1105rus>

10. Мезенова О.Я. Перспективы получения и использования протеинов из вторичного рыбного сырья // Вестник международной академии холода. 2018. N 1. С. 5–10. <https://doi.org/10.17586/1606-4313-2018-17-1-5-10>

11. Пискаева А.И. Биотехнологические аспекты утилизации отходов птицеперерабатывающих предприятий // Уникальные исследования XXI века. 2016. N 10 (22). С. 5–25.

12. Мезенова О.Я., Волков В.В., Мерзель Т., Гримм Т., Кюн С., Хелинг А. [и др.]. Сравнительная оценка способов гидролиза коллагенсодержащего рыбного сырья при получении пептидов и исследование их аминокислотной сбалансированности // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2018. Т. 8. N 4. С. 83–94. <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2018-8-4-83-94>

13. Мезенова О.Я., Хелинг А., Мерзель Т. Биопотенциал вторичного рыбного сырья // Известия высших учебных заведений. Пищевая технология. 2018. N 1. С. 11–18.

14. Глотова И.А., Литовкин А.Н., Артёмов Е.С., Ермолова А.В., Шахов С.В., Саранов И.А. Исследование процессов дегидратации биополимерных систем в составе птицепродуктов // Политематический сетевой электронный научный журнал Кубанского государственного аграрного университета (Научный журнал КубГАУ). 2016. Т. 121. С. 801–812. <https://doi.org/10.21515/1990-4665-121-045>

[org/10.21515/1990-4665-121-045](https://doi.org/10.21515/1990-4665-121-045)

15. Минченко В.Н., Коваль О.В., Васькина Т.И. Химический анализ костной ткани телят при включении в рацион биопротекторов в условиях техногенного загрязнения территории // Вестник Брянской государственной сельскохозяйственной академии. 2016. N 1 (53). С. 33–37.

16. Какимов А.К., Есимбеков Ж.С., Кабулов Б.Б. Минеральный состав реберных костей убойных животных // Международная научно-практическая конференция, посвященная памяти Василия Матвеевича Горбатова. 2015. N 1. С. 217–219.

17. Zhai Y., Wang F., Wang S. Study on prescription and technology for producing calcium-rich chewable tablets using carp bone // Journal of Tianjin Agricultural University. 2013. Issue 2. P. 25–36.

18. Курчаева Е.Е., Артемов Е.С., Глотова И.А., Тертычная Т.Н., Калашникова С.В., Ходыкина О.И. Инновационные подходы к созданию продуктов питания функциональной направленности // Технологии и товароведение сельскохозяйственной продукции. 2015. N 1. С. 65–71.

19. Babich O., Sukhikh S., Prosekov A., Ulrikh E., Lukin A. Selection of modes of poultry waste conversion into biofertilizers // Journal of Pharmaceutical Sciences and Research. 2018. Vol. 10. Issue 7. P. 1768–1771.

20. Dyshlyuk L.S., Noskova S.Yu., Asyakina L.K., Babich O.O. Upgrading experimental technological lines for obtaining bio-fertilizers from poultry biowaste // ARP Journal of Engineering and Applied Sciences. 2017. Vol. 12. Issue 23. P. 6732–740.

REFERENCES

1. Shchekotova AV, Khamagaeva IS, Tsyrenov VZh., Darbakova NV, Khazagaeva SN. Biotechnological processing procedures of collagen-containing raw materials for creation of functional foods. *Izvestiya Vuzov. Prikladnaya Khimiya i Biotekhnologiya* = Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology. 2019;9(2):250–259. <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2019-9-2-250-259>

2. Glotova IA, Litovkin AN. Problems and prospects of processing secondary products of poultry slaughter. *Tekhnologii i tovarovedenie sel'skohozyaistvennoi produkcii*. 2013;1:7–12. (In Russian)

3. Litovkin AN, Glotova IA, Krivtsova OYu. Secondary products of poultry slaughter as a raw material for functional preparations of animal proteins. *Sovremennye naukoemkie tekhnologii*. 2014;5-1:189. (In Russian)

4. Glotova IA, Galochkina NA, Boltykhov YuV. Functional collagen-containing substances

based on secondary animal products. *Izvestiya vysshikh uchebnykh zavedenii. Pishchevaya tekhnologiya* = News of higher educational institutions. Food technology. 2012;4:16-19. (In Russian)

5. Glotova IA, Ryazhskih VI, Galochkina NA, Makarkina EN, Galochkin MN. Receiving functional disperse systems on the basis of collagenic proteins: the formalized approach to the description warm processes. *Fundamental'nye issledovaniya*. 2012;11-20:383–388. (In Russian)

6. Glotova IA, Litovkin AN. Processing of poultry heads and legs with production of food modules. *Myasnaya industriya* = Meat Industry. 2016;6:48–50. (In Russian)

7. Asyakina L, Babich O, Dolganuk V, Suhikh S. Methods of production and purification of biologically active peptides. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*. 2016;7(4):2415–2422.

8. Prosekov A, Babich O, Kriger O, Ivanova S, Pavsky V, Sukhikh S, et al. Functional properties of the enzyme-modified protein from oat bran. *Food Bioscience*. 2018;24:46–49. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2018.05.003>

9. Fisinin VI, Ismailova DYu, Volik VG, Lukashenko VS, Saleeva ChP. Deep processing of secondary poultry products for different areas of research (review). *Sel'skokhozyaistvennaya biologiya = Agricultural Biology*. 2017;52(6):1105–1115. (In Russian) <https://doi.org/10.15389/agrobiology.2017.6.1105rus>

10. Mezenova OJ. Prospects for producing and using proteins from secondary fish raw materials. *Vestnik mezhdunarodnoi akademii kholoda = Journal of International Academy of Refrigeration*. 2018;1:5–10. (In Russian) <https://doi.org/10.17586/1606-4313-2018-17-1-5-10>

11. Piskaeva AI. Biotechnological aspects of waste disposal of poultry processing enterprises. *Unikal'nye issledovaniya XXI veka*. 2016;10:5–25. (In Russian)

12. Mezenova OYa, Volkov VV, Moersel T, Grimm T, Kuehn S, Hoehling A., et al. A comparative assessment of hydrolysis methods used to obtain fish collagen peptides and investigation of their amino acid balance. *Izvestiya Vuzov. Prikladnaya Khimiya i Biotekhnologiya = Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology*. 2018;8(4):83–94. (In Russian) <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2018-8-4-83-94>

13. Mezenova OYa, Hohling A, Moerzel T. Biopotential of secondary fish raw materials. *Izvestiya vysshikh uchebnykh zavedenii. Pishchevaya tekhnologiya = News of institutes of higher education. Food technology*. 2018;1:11–18. (In Russian)

14. Glotova IA, Litovkin AN, Artemov ES, Ermolova AV, Shahov SV, Saranov IA. Research of the dehydration processes of biopolymer systems in poultry products. *Politematicheskii setevoyi elektronnyi nauchnyi zhurnal Kubanskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta = Polythe-*

matic online scientific Journal of Kuban State Agrarian University (Scientific Journal of KubSAU). 2016;121:801–812. (In Russian) <https://doi.org/10.21515/1990-4665-121-045>

15. Minchenko VN, Koval OV, Vas'kina TI. The Chemical Analysis of Bone Tissue of the Calves when Including Bioprotectors into the Diet in the Conditions of Anthropogenic Pollution of the Territory. *Vestnik Bryanskoj gosudarstvennoj sel'skohozyaistvennoj akademii = Vestnik of the Bryansk State Agricultural Academy*. 2016;1:33–37. (In Russian)

16. Kakimov AK, Esimbekov ZhS, Kabulov BB. Mineral composition of rib bones of slaughter animals. In: *Development of biotechnological and post-genomic technologies for assessing the quality of agricultural raw materials and creating healthy food products: Proceedings of 18th International Scientific and Practical Conference dedicated to the Memory of V.M. Gorbатов*. 9–10 December 2015, Moscow, no. 1, p. 217–219. (In Russian)

17. Zhai Y, Wang F, Wang S. Study on prescription and technology for producing calcium-rich chewable tablets using carp bone. *Journal of Tianjin Agricultural University*. 2013;2:25–36.

18. Kurchaeva EE, Artemov ES, Glotova IA, Tertychnaya TN, Kalashnikova SV, Khodykina OI. Innovative approaches to the creation of food products of a functional orientation. *Tekhnologii i tovarovedenie sel'skohozyaistvennoj produktsii*. 2015;1:65–71 (In Russian)

19. Babich O, Sukhikh S, Prosekov A, Ulrikh E, Lukin A. Selection of modes of poultry waste conversion into biofertilizers. *Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*. 2018;10(7):1768–1771.

20. Dyshlyuk LS, Noskova SYu, Asyakina LK, Babich OO. Upgrading experimental technological lines for obtaining bio-fertilizers from poultry biowaste. *ARPN Journal of Engineering and Applied Sciences*. 2017;12(23):6732–740.

Критерии авторства

Мезенова Н.Ю., Агафонова С.В., Мезенова О.Я., Байдалинова Л.С., Волков В.В. выполнили экспериментальную работу. Авторы совместно обобщили результаты, написали рукопись, имеют на статью равные авторские права и несут равную ответственность за плагиат.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Contribution

Natalia Yu. Mezenova, Svetlana V. Agafonova, Olga Ya. Mezenova, Larisa S. Baydalinova, Vladimir V. Volkov carried out the experimental work. The authors on the basis of the results summarized the material and wrote the manuscript. All authors have equal author's rights and bear equal responsibility for plagiarism.

Conflict interests

The authors declare no conflict of interests regarding the publication of this article.

Все авторы прочитали и одобрили окончательный вариант рукописи.

The final manuscript has been read and approved by all the co-authors.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Мезенова Наталья Юрьевна,
к.т.н., доцент кафедры пищевой биотехнологии,
Калининградский государственный технический университет,
236022, г. Калининград, Советский пр-т, 1,
Российская Федерация,
e-mail: nataliya.mezenova@klgtu

Natalia Yu. Mezenova,
Cand. Sci. (Engineering), Associate Professor,
Department of Food Biotechnology,
Kaliningrad State Technical University,
1, Sovetskii Ave., Kaliningrad, 236022,
Russian Federation,
e-mail: nataliya.mezenova@klgtu

Агафонова Светлана Викторовна,
к.т.н., доцент кафедры пищевой биотехнологии,
Калининградский государственный технический университет,
236022, г. Калининград, Советский пр-т, 1,
Российская Федерация,
e-mail: svetlana.agafonova@klgtu.ru

Svetlana V. Agafonova,
Cand. Sci. (Engineering), Associate Professor,
Department of Food Biotechnology,
Kaliningrad State Technical University,
1, Sovetskii Ave., Kaliningrad, 236022,
Russian Federation,
e-mail: svetlana.agafonova@klgtu.ru

Мезенова Ольга Яковлевна,
д.т.н., профессор, заведующая кафедрой пищевой биотехнологии,
Калининградский государственный технический университет,
236022, г. Калининград, Советский пр-т, 1,
Российская Федерация,
e-mail: mezenova@klgtu.ru

Olga Ya. Mezenova,
Dr. Sci. (Engineering), Professor,
Head of the Department of Food Biotechnology,
Kaliningrad State Technical University,
1, Sovetskii Ave., Kaliningrad, 236022,
Russian Federation,
e-mail: mezenova@klgtu.ru

Байдалинова Лариса Степановна
к.т.н., доцент, профессор кафедры пищевой биотехнологии,
Калининградский государственный технический университет,
236022, г. Калининград, Советский пр-т, 1,
Российская Федерация,
e-mail: baydalina@nevmail.ru

Larisa S. Baydalina,
Cand. Sci. (Engineering), Associate Professor,
Professor of the Department of Food Biotechnology
Kaliningrad State Technical University
Kaliningrad State Technical University,
1, Sovetskii Ave., Kaliningrad, 236022,
Russian Federation,
e-mail: baydalina@nevmail.ru

Волков Владимир Владимирович,
заместитель начальника технопарка,
Калининградский государственный технический университет,
236022, г. Калининград, Советский пр-т, 1,
Российская Федерация,
e-mail: vladimir.volkov@klgtu.ru

Vladimir V. Volkov,
Deputy Head of Techno park
Kaliningrad State Technical University,
1, Sovetskii Ave., Kaliningrad, 236022,
Russian Federation,
e-mail: vladimir.volkov@klgtu.ru