



Технология протеолитических ферментов широкого спектра действия из внутренних органов прудовых рыб

М.Е. Цибизова, Астраханский государственный технический университет

В современном производстве продукции из водного биосырья используется лишь небольшое число соединений, содержащихся в рыбе и других гидробионтах. Большинство внутренних органов и тканей гидробионтов не используется или, в лучшем случае, идет на изготовление рыбной муки. Так, например, на промысле минтая по существующей в настоящее время технологии, доля пищевой продукции составляет лишь 25-30 % улова, остальная часть составляет массу отходов, переработка которых, из-за отсутствия наукоемких технологий, проблематична. В реальных условиях производства не исключены периодические выбросы отходов, что приводит к потерям белоксодержащего сырья и ухудшает экологическую ситуацию в районе вылова (Элштейн, 2003). Аналогичная ситуация складывается и в районах вылова и переработки частичковых и прудовых рыб.

Морские и частичковые рыбы являются источником важных микроэлементов, оказывающих существенное биологическое действие на человека, и поэтому получивших название биомикроэлементов (Якуш, 2003).

В тканях рыбного сырья, как и в тканях любого животного организма, находится в малых количествах большое число ферментов, выполняющих роль биологических катализаторов химического превращения веществ при белковом, липидном и углеводном обмене. В рыбном сырье обнаружен широкий спектр протеолитических ферментов, содержащихся в мышечных тканях и внутренних органах рыбного сырья. Это катепсины – ферменты мышечной ткани, пепсины и трипсины – ферменты пищеварительного тракта рыбы. Рыбное сырье также является источником амилолитических и липолитических ферментов (Кислухина, 2002).

Ферментация, т.е. направленное использование ферментных реакций в продуктах, во многих случаях приводит к существенному повышению качества готовой продукции. Например, в результате созревания слабосоленой рыбы под действием протеолитических ферментов, содержащихся в тканях и пищеварительных органах рыбы или в ферментных препаратах, искусственно вводимых в продукт, рыба приобретает нежную консистенцию. Китовое мясо, характеризующееся плотной, грубой структурой, при введении в него ферментов также приобретает нежную консистенцию. Таким образом, применение ферментов позволяет придать продукту те или иные заранее заданные свойства, повысить его качество, расширить ассортимент (Разумовская, 1972, 1980; Черногорцев А.П., 1990).

Практическое использование БАВ гидробионтов значительно повышает эффективность производства, так как стоимость этих веществ зачастую составляет более весомую величину, чем стоимость традиционной массовой, пищевой, кормовой и технической продукции.

В качестве дополнительного источника белкового сырья могут быть использованы отходы от разделки прудовых рыб, в том числе – их внутренние органы.

В настоящее время наибольший интерес уделяется технологиям, предусматривающим получение протеолитических ферментов из рыбного сырья и отходов, полученных при переработке гидробионтов, на основе автопротеолиза (Черногорцев, 1973, 1990; Грачева, 2000).

Первые попытки приготовления ферментных препаратов из рыбного сырья отечественными исследователями были предприняты в

60-х годах прошлого века из калянусной сельди, путем настаивания смеси измельченной рыбы с водой и тузлуком для получения раствора, с содержанием поваренной соли 12 – 15 %. Добавление такой вытяжки в количестве 6 % заметно ускоряло созревание соленой сельди (Лысова, 1971).

В основу новой схемы получения ферментного препарата «Океан» из внутренностей скумбрии, ставриды и сардинеллы положено использование эффекта активации ферментов при частичном гидролизе ферментсодержащего сырья с максимальным выходом раствора пептидгидролаз. В качестве сырья использовали внутренние органы названных рыб целиком, но при условии, чтобы масса ожирков и гонад не превышала 20 % от массы внутренностей. Консервировали сырье добавлением поваренной соли в количестве 10 % к массе сырья. Такая дозировка поваренной соли предотвращает развитие *Cl. Botulinum* и незначительно влияет на активность получаемого ферментного препарата.

Известна и другая схема получения ферментов из быстросозревающих рыб, включающая измельчение сырья, настаивание с водой при 0°C, центрифугирование, осаждение белков сульфатом аммония, промывку осадка и его сушку (Константинова, 2001).

Аналогичный способ был применен Е.А. Наседкиной и В.Г. Янчук для выделения ферментов из внутренностей курильской скумбрии. Ферменты экстрагировали водой, осаждали $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, промывали и высушивали (Голенкова и др., 1988).

Проведение ферментативного гидролиза под действием собственных ферментов положено в основу получения ферментного препарата протеолитического действия из внутренностей свежих или мороженых рыб океанического промысла (скумбрии, ставриды), включающий измельчение сырья, консервирование его хлористым натрием и отделение жидкой фракции фермента центрифугированием. В результате проведенных исследований, был получен ферментный препарат с повышенной протеолитической активностью за счет расширения рН-диапазона его действия (Слуцкая и др., 1985).

Технология получения ферментного препарата, предложенная исследователями, также основана на автопротеолизе при температуре 40°C в течение 4 – 6 часов (Некрасова и др. 1988).

Таким образом, проведенная работа по изучению возможности получения протеолитического ферментативного препарата из внутренних органов океанических рыб на основе автопротеолиза, показала возможность применения этой технологии для получения ферментов из других объектов промысла: прудовых рыб, получивших промышленное использование.

Для достижения указанной цели решаются следующие задачи:

- изучение известных способов получения ферментных препаратов из вторичных ресурсов рыбной промышленности;
- разработка режимов получения технического ферментного препарата из внутренних органов прудовых рыб;
- разработка технологических режимов последующей обработки технического ферментного препарата.

Химический состав внутренних органов прудовых рыб и полученных автолизатов характеризовались содержанием влаги, общего (ОА) и небелкового азотов (НБА), азота летучих оснований (АЛО), аминокислотного азота (АА) или ФТА (формольно-титруемого азота), жира и золы,

а также протеолитической способностью (ПС) как внутренних органов, так и технического ферментного препарата.

Определение содержания влаги, ОА, АЛО, сырого протеина и жира, минеральных веществ (зола) проводилось стандартными методами (ГОСТ 7636-85). Количество НБА определялось методом Кьельдаля (Головин, 1992). Общие липиды извлекались бинарным растворителем (хлороформом с метанолом) модифицированным методом Блайя и Дайера (Ржавская, 1973). Определение содержания АА (азота концевых аминогрупп) или ФТА проводилось модифицированным методом Черногорцева (Черногорцев, 1973).

Эффективность процесса гидролиза оценивалась по количеству гидролизованного белка (глубине гидролиза), выраженному в процентах, и рассчитывалась по следующей формуле:

$$Z = \frac{N_{AA} - N_{AA_0}}{N_{\text{общ}} - N_{AA_0}} \cdot 100, \%$$

где:

N_{AA_0} – аминный азот в начале ферментативной реакции, мг/100 г;

N_{AA} – аминный азот в конце ферментативной реакции, мг/100 г;

$N_{\text{общ}}$ – общий азот смеси, мг/100 г;

Z – количество гидролизованного белка, %.

Определение ферментативной способности проводилось модифицированным методом Ансона. В качестве субстрата, подвергаемого расщеплению полученным ферментным препаратом, использовался казеинат натрия (ТУ 15-188-76).

Предлагается технология протеолитического ферментного препарата широкого спектра действия, получение которого может быть осуществлено следующим образом: прием внутренних органов > сортировка > мойка > измельчение > составление гидролизуемой смеси > автолиз > центрифугирование > очистка технического ферментного препарата (концентрирование, высаливание, растворение в органических растворителях) > фильтрация > сушка > измельчение > расфасовка > хранение.

Были разработаны режимы получения технического ферментного препарата из внутренних органов толстолобика и белого амура: соотношение твердой и жидкой части 1:0,5, рН 6,2 – 6,6, температура 38 – 42 °С, рекомендуемая продолжительность гидролиза – 4 часа. Режимы гидролиза были установлены по глубине гидролиза, по выходу ФП (ферментативного препарата) и по изменению его ФС (ферментативной способности).

На рис. 1 представлена динамика изменения глубины гидролиза внутренних органов в зависимости от продолжительности процесса.

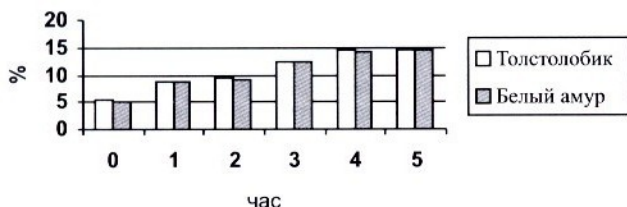


Рис. 1 Динамика изменения глубины гидролиза в зависимости от продолжительности

Согласно полученным данным, максимальная глубина гидролиза достигается в течение 4 часов. Увеличение времени не приводит к заметному повышению глубины гидролиза, а продолжение процесса автолиза может не только привести к порче гидролизата, что вызывает необходимость его консервирования, но и к постепенному снижению активности собственных ферментов внутренних органов сырья.

Проведенные исследования также показали, что внутренности толстолобика обладают большей ПС, чем внутренние органы белого амура, что, вероятно, связано с индивидуальной активностью ферментной системы каждого объекта исследования, для активизации которой необходимы свои условия, так как зона рН-оптимума действия ферментов может быть узкой или широкой, что связано с усло-

виями функционирования ферментов и особенностями субстратов. Некоторые ферменты подвергаются тепловой инактивации уже при 40°С, так как температура оказывает значительное влияние на скорость протекания отдельных стадий ферментативных реакций и на стабильность ферментов.

Об этом свидетельствует динамика изменения ферментативной активности внутренних органов сырья в процессе гидролиза, которая показывает, что с увеличением продолжительности гидролиза, ФС сырья претерпевает значительные изменения в интервале от 1 до 4 часов. Дальнейшее продолжение процесса не оказывает значительного влияния на активность ферментной системы сырья (рис. 2).

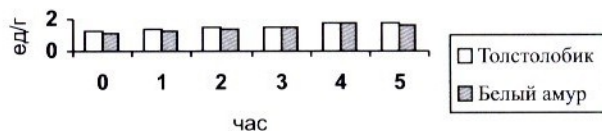


Рис. 2 Динамика изменения ферментативной активности внутренних органов сырья в процессе гидролиза

Полученные данные также свидетельствуют, что наибольшей ФС обладают внутренние органы толстолобика, что, по-видимому, связано с особенностями функционирования данных ферментов, так как условия проведения процесса гидролиза были идентичными для представленных объектов исследования.

На рис. 3 представлена зависимость выхода технического ферментного препарата протеолитического действия от продолжительности гидролиза. Согласно полученным данным, наибольший выход технического ферментного препарата наблюдается после 4 часов гидролиза. Дальнейшее увеличение продолжительности гидролиза не приводит к значительному увеличению выхода ФП. Представленная зависимость характерна как для толстолобика, так и для белого амура.

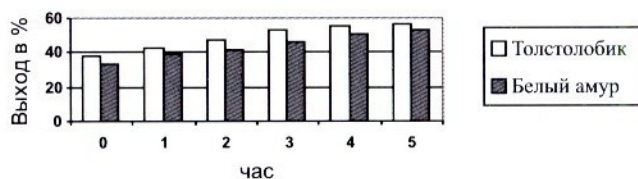


Рис. 3 Зависимость выхода технического ферментного препарата протеолитического действия от продолжительности гидролиза

Полученные данные, по-видимому, свидетельствуют о том, что с увеличением продолжительности гидролиза, глубина гидролиза и выход ферментного препарата остаются практически без изменений. Это может быть объяснено тем, что скорость гидролиза снижается из-за уменьшения концентрации субстрата и накопления продуктов реакции, которые ингибируют прямую реакцию и служат субстратами для обратной реакции, катализируемой тем же ферментом.

Работы по разработке режимов очистки ферментного препарата будут продолжены.

Tsibizova M.E.

Technology of broad spectrum ferments from internals of pond fish

Modern processing technologies cannot guarantee maximal output of fish production, a lot of valuable stuff is wasted polluting the environment. At the same time, inner organs of fish contain many valuable substances. So, the author proposes a technology for obtaining broad spectrum ferments from internals of pond fish (*Ctenopharyngodon idella* and *Hypophthalmichthys molitrix*). In the paper the technical parameters of the processing are presented.