УДК 664:577.11

**ПЕРЕРАБОТКА ОТХОДОВ ВОДНЫХ БИОРЕСУРСОВ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МЕТОДОВ
БИОТЕХНОЛОГИИ**

Н.Г. Строкова, Н.Ю. Зарубин, О.В. Бредихина

*Всероссийский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства и океанографии, Москва,
Россия*

Одним из основных направлений деятельности рыбной отрасли России является рациональное использование сырья водного происхождения, в том числе решение проблем снижения отходов и потерь при его переработке. При существующих технологиях переработки водных биоресурсов на пищевую продукцию количество отходов от разделки составляет до 80 % или ~ 1,6 млн. т от массы среднегодового российского улова.

В настоящее время рыбные отходы в основном (до 90 %) являются сырьем для производства кормовой муки, а также рыбного жира из отходов от разделки лососевых видов рыб, трески и минтая. Использование отходов от переработки ракообразных (креветки, крабы, криль и др.) крайне ограничено и не превышает 1,0 %. Однако известно, что кожа, хрящевая ткань, кости рыб и панцирьсодержащие отходы являются высокоценным технологическим сырьем для получения биологически активных компонентов (коллаген, хондроитинсульфат, хитин и др.) и продуктов на их основе. Для выделения этих БАВ целесообразно использовать биотехнологические методы обработки сырья, позволяющие разрушить связи между белками и углеводами, и при этом сохранить нативную структуру и свойства компонентов [1–4].

Ранее в ФГБНУ «ВНИРО» разработана технология хондроитинсульфат-белкового комплекса (ХНБК) путем ферментативного гидролиза хрящесодержащих отходов от разделки акулы катран (*Squalus acanthias*) [14, 15]. Полученный по данному способу ХНБК многокомпонентен и содержит такие биологически активные вещества как гексозамины (4,30 %), хондроитинсульфаты (5,37 %), коллаген (13,90 %), неколлагеновые белки (42,40 %), минеральные вещества (4,43 %), а также свободные аминокислоты (13,10 %). Ферментативный гидролизат по составу может быть использован в качестве источника аминокислот, коллагена, аминокислот и др. в форме биологически активной добавки к пище, а также в составе многокомпонентных пищевых систем для устранения недостатка в рационе биологически активных веществ.

Учитывая, что наиболее массовыми объектами переработки на пищевую продукцию являются промысловые виды рыб семейства тресковых и лососевых (~ 550, 17 тыс. кг / год), нами разработан биотехнологический способ переработки коллагенсодержащих отходов (кожа с чешуей, плавники, кости, хрящи, плавательные пузыри), образующихся в процессе разделки в количестве от 38,0 до 58,0 % [5, 6, 10, 11].

С целью получения коллагенсодержащих гидролизатов отходы подвергали трехкратной обработке 10 %-ным водным раствором лимонной кислоты в течение 60 мин. при постоянном перешивании. Соотношение коллагенсодержащей массы к раствору кислоты = 1 : 1. После промывания полученную массу подмораживали при температуре минус 25 °С в течение 2 ч и измельчали на волчке с диаметром отверстий решетки 2–3 мм. Гидролиз измельченной массы проводили с использованием комплекса ферментных препаратов «Коллагеназа пищевая» и «Протепсин». Эффективность гидролиза коллагенсодержащих отходов оценивали по накоплению свободного аминного азота в гидролизатах. В работе были установлены и обоснованы рациональные параметры ферментативного гидролиза предобработанных коллагенсодержащих отходов: концентрация ферментных препаратов – по 0,1 % к массе сырья; гидромодуль 1:2; продолжительность гидролиза – 5,5 ч при температуре 35 °С и постоянном перемешивании. Инактивировали комплекс ферментных препаратов при температуре 70 °С в течение 15 мин.

Полученный гидролизат концентрировали на ультрафильтрационной установке через двухслойные металлокерамические мембраны с размерами пор 0,1–0,5 мкм под давлением не менее 0,22 МПа. В результате ультрафильтрации получали два продукта: фильтрат (прозрачная жидкость с желтоватым оттенком) и концентрат гидролизата (непрозрачная масса с сероватым оттенком), который затем отправляли на лиофильную сушку, измельчали на шаровой мельнице [7, 8, 9, 13] и получали сухой коллагенсодержащий гидролизат. Выход сухого продукта составил 12 %.

Были проведены исследования по изучению показателей качества коллагенсодержащих гидролизатов (таблица 1).

Таблица 1 Показатели качества сухого коллагенсодержащего гидролизата, полученного из отходов от разделки рыб семейства тресковых (минтай, треска) и лососевых (нерка, кета, семга)

Растворимость в воде		полная
Внешний вид раствора		незначительная замутненность
рН 10 %-ного водного раствора		5,5 – 5,8
Просеивание порошка		очень быстрое
Цвет порошка		светло-серый
Запах и вкус		свойственные данному виду продукта
Энзиматическая активность порошка		отсутствует
Степень гидратации, г коллагенсодержащего гидролизата / г воды		1:4
Содержание, %	воды	4,0–6,0
	белка	73,2–75,6
	коллагена*	64,3–74,1
	жира	0,2–0,9
	зола	1,5–2,9

* – % от общего белка

В результате исследований установлено, что сухой гидролизат содержит значительное количество коллагена – до 74,1 % от общей массы белка, в связи с чем его можно рекомендовать к использованию как самостоятельную пищевую добавку (источник коллагена, аминокислот, аминокислот), а также в качестве структурообразователя.

Для обоснования целесообразности использования полученного коллагенсодержащего гидролизата в технологиях продуктов питания, в том числе на фаршевой основе, были проведены исследования по изучению его функционально-технологических и реологических свойств (таблица 2) в гидратированном виде.

Таблица 2 – Функционально-технологические и реологические свойства гидратированных коллагенсодержащих гидролизатов из отходов от разделки рыб семейства тресковых (минтай, треска) и лососевых (нерка, кета, семга)

Показатель	Значение
ВСС, % к общей влаге	89,76 ± 3,05
ВУС, % к сух. веществу	221,49 ± 5,43
ЖУС, % к сух. веществу	292,01 ± 9,15
Пластичность, 10 ⁻² см ² /г	1,11 ± 0,06
Предельное напряжение сдвига, Па	327,11 ± 5,68
Эффективная вязкость, Па·с	435,29 ± 10,66

Из данных таблицы 2 видно, что коллагенсодержащий гидролизат обладает высокими значениями влагосвязывающей (ВСС) и водоудерживающей (ВУС) способности, что является положительным фактором для его включения при формировании консистенции и структуры готового продукта. Значение предельного напряжения сдвига (ПНС) гидролизата находилось на уровне 327,11 Па. Следует отметить, что значение ПНС смеси измельченных рыбных отходов до обработки – 1534,23 Па. Эффективная вязкость гидролизата составила 434,29 Па·с и значительно снизилась по сравнению с данным показателем (2418,21 Па·с) для необработанных отходов. Снижение значений ПНС и эффективной вязкости у коллагенсодержащих гидролизатов связано с деструкцией структуры белковых компонентов и уменьшением их молекулярной массы в процессе предобработки сырья органической кислотой и ферментативного гидролиза.

Таким образом, на основании проведенных исследований можно сделать вывод, что коллагенсодержащий гидролизат, полученный из отходов от разделки рыб семейства тресковых и лососевых, обладает хорошей структурообразующей способностью, позволяющей обеспечить высокие функционально-технологические свойства многокомпонентным пищевым системам.

Следует отметить, что были проведены исследования по усовершенствованию процесса ферментативного гидролиза панцирьсодержащих отходов (ПСО) ракообразных. Белковый гидролизат получали из предварительно обезвоженных и обезжиренных согласно [12] ПСО креветок тигровых (*Penaeus monodon*) методом ферментативного гидролиза протеиназами различной природы (растительного, животного и бактериального происхождения).

Гидролиз обезжиренных ПСО проводили с помощью промышленных ферментативных препаратов протосубтилина Г20Х (активность 150 ед./мг; рН 7,0–7,5; температура оптимум 52 °С), 2 %-ного водного раствора папаина (активность 800–900 ед./мг при рН 6,0–7,0; температура 50 °С) и Махазуме npr (активность 180000,0 РС/г, рН 6,5–7,0; температура 51 °С). Папаин является протеолитическим растительным ферментом, гидролизующим белки, пептиды, амиды и сложные эфиры основных аминокислот. Махазуме npr – ферментный препарат, содержащий бактериальную протеазу, полученную из отборного штамма *Bacillus Subtilis*, и используемый в пищевой промышленности.

Установленные рациональные параметры ферментативного гидролиза ПСО креветки протеиназами различной природы представлены в таблице 3. Из данных таблицы о содержании сухого вещества в гидролизате и сырого протеина в нем (44,5 % и 84,0 %, соответственно) видно, что наилучший результат получен при обработке сырья папаином.

После инактивации ферментных препаратов гидролизаты фильтровали и сушили при температуре минус 35 °С, давлении 0,250 атм. Из осадка, содержащего хитин, рекомендуется получать биополимер хитозан по традиционной технологии.

Ферментализаты, полученные из панцирьсодержащих отходов креветок протеиназами различной природы на 80,01–83,66 % состоят из белка, содержат 10,20–14,74 % минеральных веществ и небольшое количество жира ~ 0,1 %.

Таблица 3 – Рациональные параметры ферментативного гидролиза панцирьсодержащих отходов креветки тигровой (*Penaeus monodon*) протеиназами различной природы

Показатель	Ферментный препарат		
	протосубтилин	папаин	Махазуме npr
Соотношение ПСО: вода	1:11		
Концентрация ферментного препарата, %	0,5	0,4	0,4
Температура, °С	52	50	51
Продолжительность гидролиза, ч	4	4	2
рН среды	7,5	7,0–7,5	7,0–7,5
Инактивация ферментных препаратов	90 °С в течение 15 мин.		
Содержание сухих веществ в жидком гидролизате, % от массы ПСО	42,02	44,53	40,30
Содержание сырого протеина N _{общ.} x 6,25, % на сухое вещество	80,01	83,66	80,57

Проведенные исследования аминокислотного состава гидролизатов из ПСО креветок, полученных с использованием протосубтилина и папаина, показали отсутствие принципиальных различий по содержанию заменимых и незаменимых аминокислот. Сумма незаменимых аминокислот в гидролизате из панцирьсодержащих отходов креветок, полученных с помощью протосубтилина составляет – 34,83 г./100г белка, с помощью папаина – 32,67 г./100г белка. Для определения биологической ценности исследуемых ферментализатов проводили расчет аминокислотного сора, который показал, что в гидролизате из ПСО креветок с протосубтилином превалирует содержание изолейцина, треонина и фенилаланина + тирозина, а лимитирующими аминокислотами являются метионин + цистин и валин. В гидролизате из ПСО креветок с папаином превалируют фенилаланин + тирозин и треонин, тогда как остальные незаменимые аминокислоты являются лимитирующими по отношению к шкале ФАО/ВОЗ.

Таким образом, усовершенствованный способ получения ферментативных гидролизатов из панцирьсодержащих отходов креветок с использованием нового для данного вида сырья ферментного препарата папаина (2 %-ный раствор) позволяет получить ферментализаты, предназначенные для кормовой и пищевой промышленности, а также микробиологии при приготовлении питательных сред, используемых для идентификации микроорганизмов.

В результате проведенных исследований обоснована возможность решения проблем переработки отходов от разделки рыб и ракообразных с применением биотехнологических методов, что позволяет получить биологически активные продукты – ферментативные гидролизаты, характеризующиеся высоким содержанием белка (до 80,0 %), состав которого представлен полным набором незаменимых и заменимых аминокислот, а также коллагеном.

ЛИТЕРАТУРА

1. Андрусенко, П.И. Малоотходная и безотходная технология при обработке рыбы / Андрусенко П.И. – М.: Агропромиздат, 1988. – 112 с.
2. Антипова, Л.В. Биотехнология коллагеновых пищевых ингредиентов / Л.В. Антипова, С.А. Сторублевцев // Мясная индустрия. – 2010. – № 6. – С. 16–18.
3. Антипова, Л.В. Коллаген рыбного происхождения: свойства и перспективы применения в косметологии и медицине / Л.В. Антипова, С.Б. Болгова // Материалы 19-ой Международной Пущинской школы – конференции молодых ученых «Биология – наука XXI века». – Пущино, 2015. – С. 5.
4. Антипова, Л.В. Коллагены: источники, свойства, применение / Л.В. Антипова, С.А. Сторублевцев. – Воронеж: ВГУИТ, 2014. – 512 с.
5. Бредихина, О.В. Научные основы производства рыбопродуктов / О.В. Бредихина, С.А. Бредихин, М.В. Новикова. – М.: КолоС, 2009. – 152 с.

6. Байдалинова, Л.С. Биотехнология морепродуктов / Л.С. Байдалинова, А.С. Лысова, О.Я. Мезенова и др. – М.: Мир, 2006. – 560 с.
7. Зарубин, Н.Ю. Получение сухих высококачественных рыбных гидролизатов с использованием вакуумной сублимационной сушки / Н.Ю. Зарубин, О.В. Бредихина, Г.В. Семёнов, И.С. Краснова // Вестник АГТУ: серия рыбное хозяйство. – 2016. – № 3. – С. 138–144.
8. Зарубин, Н.Ю. Новые данные об использовании коллагеновых гидролизатов в технологии рыбных полуфабрикатов / Н.Ю. Зарубин, Е.В. Литвинова, Ю.В. Фролова, О.В. Бредихина // Пищевая промышленность. – 2016. – № 12. – С. 21–24.
9. Зарубин, Н.Ю. К вопросу переработки жилованных отходов мясного сырья и моллюсков для получения высококачественных белковых ферментализатов / Н.Ю. Зарубин, О.В. Бредихина, М.И. Бабурина, А.Н. Иванкин // Все о мясе. – 2019. – № 2. – С. 44–48.
10. Кильмаев, Р.Г. Исследования ферментативного гидролиза малоценного рыбного сырья в технологии получения белковых продуктов / А.А. Кильмаев, Р.Г. Разумовская // Вестник АГТУ. Сер: Рыбное хозяйство – 2007. – № 3. – 2007. – С. 120–125.
11. Лагуткина, Л.Ю. Аквакультура: приоритеты, ресурсы, технологии / Л.Ю. Лагуткина, О.Ю. Лагуткин // Рыболовство и рыбное хозяйство. – 2011 – № 3. – С. 49–56.
12. Подкорытова А.В., Строкова Н.Г., Семикова Н.В. Комплексная переработка культивируемых креветок // Тезисы докладов на Международную научно-практическую конференцию «Мировые тенденции развития аквакультуры и современные методы переработки водных биоресурсов». – М.: МВЦ «Крокус-сити ЭКСПО», 2010. – С. 72.
13. Семенов, Г.В. Вакуумная сублимационная сушка / Г.В. Семенов. – М.: ДеЛи плюс, 2013. – 264 с.
14. Сорокоумов И.М., Строкова Н.Г., Немцев С.В. и др. Хондроитинсульфат-белковый комплекс из хрящевой ткани ранозаживляющие покрытия на его основе // РЫБПРОМ. – 2010. – № 1. – С. 72.
15. Сорокоумов И.М., Ежова Е.А., Быкова В.М. и др. Хондроитинсульфат из хрящей рыб // РЫБПРОМ. – 2007. – № 3. – С. 18.