

ЭФФЕКТИВНОСТЬ НОВОГО КОМПЛЕКСНОГО ПРЕПАРАТА ГРИБНЫХ ПРОТЕАЗ ПРИ ОБРАБОТКЕ ОЛЕНЬИХ ШКУР**Е.И. Курбатова¹, А.С. Серeda¹, Е.В. Костылева¹, К.В. Вьюгин², Е.А. Михайловский³**¹ ВНИИПБТ – филиал ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии», Москва, Россия

МГУТУ им. К.Г. Разумовского, Москва, Россия

³ НОЦ «Российская Арктика», г. Архангельск, Россия

Ферментативные гидролизаты коллагенсодержащих вторичных ресурсов животноводческой отрасли имеют большой потенциал в пищевой, косметической и фармацевтической промышленности. Так шкуры северных оленей, непригодные для применения в меховом и кожевенном производстве из-за наличия дефектов, являются перспективным источником коллагена для получения гидролизатов, обладающих функциональными и биологически активными свойствами. В связи с уходом с российского рынка основных производителей ферментных препаратов (ФП) важным аспектом также является разработка новых отечественных ФП протеолитического действия, эффективных при переработке белоксодержащего сырья.

Нативный коллаген имеет жесткую фибриллярную структуру, устойчивую к действию большинства протеолитических ферментов. Однако некоторые сериновые и металлопротеазы обладают коллагеназной активностью. Используя метод Мандла, мы определили, что коллагеназная активность наиболее известных зарубежных ФП протеолитического действия – Alcalase, Flavourzyme (Novozymes A/S, Дания) и лабораторного образца нового отечественного препарата Протооризин LAP, составляет 1184 ± 71 , 651 ± 47 и 954 ± 53 ед./г соответственно. Для проведения гидролиза обезвоженную шкуру северного оленя разрезали на квадратные куски весом 0,5 г. Гидролиз проводили в течение 24 ч при 40 °С в 0,05 М фосфатном буфере pH 7,0 при гидромодуле 1:6. Препараты дозировали из расчета 5 ед. коллагеназной активности/г субстрата. По окончании гидролиза ферменты инактивировали инкубированием при 95 °С в течение 15 мин, нерастворившийся субстрат отделяли центрифугированием, в супернатанте определяли содержание растворимого белка спектрофотометрическим методом. Помимо длительного гидролиза, был проведен кратковременный процесс (в течение 4 ч) с предварительной термообработкой погруженного в буфер субстрата – в течение 30 мин при 95 °С.

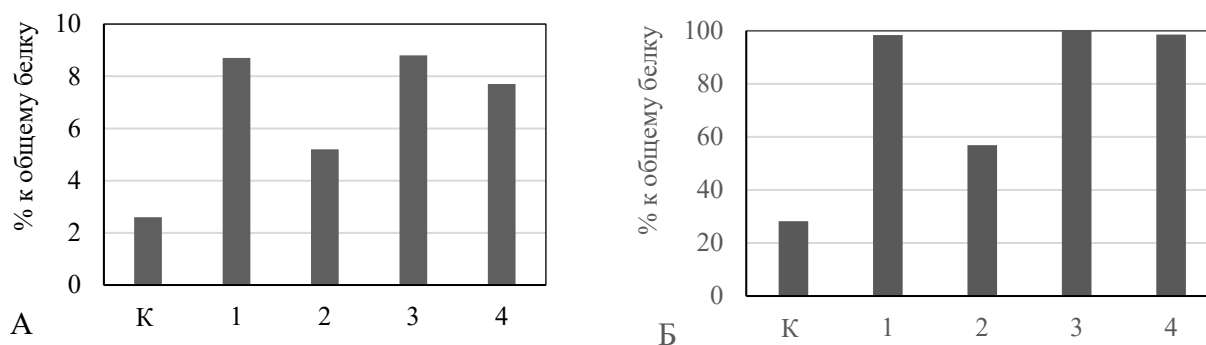


Рисунок 1. Содержание растворимого белка в гидролизатах шкур северного оленя, полученных с использованием различных ФП: К – без ФП, 1 – Alcalase, 2 – Flavourzyme, 3 – Alcalase + Flavourzyme, 4 – Протооризин LAP. А – 24 ч гидролиза без предобработки, Б – 4 ч гидролиза с термопредобработкой

Из полученных результатов (рис. 1) очевидно, что коллагеназная активность исследуемых препаратов недостаточно высока для эффективной обработки шкур. После 24 ч гидролиза в растворимое состояние перешло менее 10 % от содержания общего белка в образцах, определенного методом Кьельдаля.

Термопредобработка значительно повысила эффективность действия протеаз, благодаря желатинизации коллагена. Выход растворимого белка в вариантах с ФП Alcalase, Протооризин LAP, а также при совместном действии Alcalase и Flavourzyme достигал 98–100 %, что обусловлено доступностью желатинизированного коллагена для действия протеаз. Обработка ФП Flavourzyme обеспечила переход в растворимое состояние лишь 56,9 % белка.

Электрофоретический анализ белковых гидролизатов, полученных с термopедобработкой, подтвердил высокую эффективность препаратов Alcalase и Протооризин LAP при получении гидролизатов коллагена оленьих шкур, которые обеспечили переход всех белков коллагена в пептиды с молекулярной массой ниже 10 кДа (рис. 2). В варианте с индивидуальным использованием ФП Flavourzyme наблюдаются промежуточные продукты гидролиза с молекулярной массой от 10 до 50 кДа.

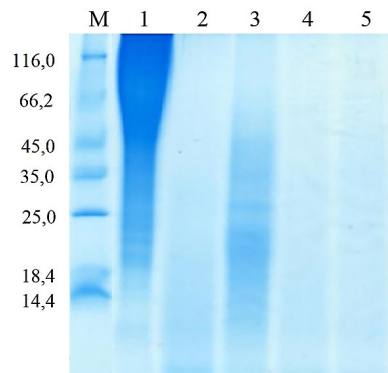


Рисунок 2. Электрофореграмма гидролизатов термopедобработанной шкуры оленя после обработки ФП, где: М – маркер, 1 – контроль без ФП, 2 – Alcalase, 3 – Flavourzyme, 4 – Alcalase + Flavourzyme, 5 – Протооризин LAP

Таким образом, лабораторный образец протеолитического ФП Протооризин LAP показал высокую эффективность при гидролизе желатинизированного коллагена шкур северного оленя, успешно заменив наиболее широко применяемые в пищевой промышленности зарубежные препараты. Полученные результаты показывают перспективность разработки технологии переработки вторичного сырья оленеводства с использованием отечественного ферментного препарата протеолитического действия.

*Исследования выполнены в рамках государственного задания
№ FGMP-2022-0006*