

<https://doi.org/10.21603/2074-9414-2026-1-2618>
<https://elibrary.ru/EOVXKO>

Оригинальная статья
<https://fptt.ru>

Ферментативные рыбные белковые гидролизаты из отходов переработки атлантической трески: влияние типа и концентрации фермента



Ю. А. Кучина¹, Д. С. Колотова¹, В. В. Толстикова²,
В. В. Василевич², С. Р. Деркач^{1,*}

¹ Мурманский арктический университет , Мурманск, Россия

² ООО «Эко Фиш», Санкт-Петербург, Россия

Поступила в редакцию: 14.05.2025

Принята после рецензирования: 15.08.2025

Принята к публикации: 13.01.2026

*e-mail: derkachsr@mauniver.ru

© Ю. А. Кучина, Д. С. Колотова, В. В. Толстикова,
В. В. Василевич, С. Р. Деркач, 2026



Аннотация.

Проблема использования отходов рыбпереработки в качестве вторичного сырья для получения продукции с добавленной стоимостью актуальна как для исследователей, так и для производителей. Одними из наиболее перспективных видов продукции являются гидролизаты рыбного белка, получаемые из побочных продуктов рыбпереработки. Рыбные белковые гидролизаты содержат незаменимые аминокислоты и биологически активные пептиды. Они могут быть использованы в качестве пищевых ингредиентов в составе продуктов питания. Цель данного исследования – оптимизировать традиционную технологию получения белкового гидролизата из вторичного рыбного сырья с использованием ферментативного гидролиза.

Объекты исследования – отходы атлантической трески (*Gadus morhua*) из Центрально-Восточного района Атлантики, белокосодержащее рыбное сырье (хребты с остатками мышечной ткани и плавников). В работе использованы пять ферментов: Панкреатин, Коллагеназу, Протозим В, Алкалазу 2,4 L FG и Энзи-Микс У – в широком диапазоне концентраций. Оптимизация традиционной технологии включала введение дополнительной стадии – обработку сырья раствором уксусной кислоты с целью улучшения органолептических свойств рыбных белковых гидролизатов. Также проведена оптимизация стадии щелочного растворения белковых молекул для увеличения степени растворения белков. Для характеристики полученных гидролизатов рыбного белка использованы методы химического анализа и метод высокоэффективной жидкостной хроматографии, определен аминокислотный состав и молекулярно-массовое распределение гидролизатов.

В результате исследования получены гидролизаты рыбного белка с высоким содержанием белка (85–90 %) и высоким аминокислотным скором (110–190 %) практически по всем незаменимым аминокислотам; выход продукта варьировался от 22 до 55 %. При исследовании влияния концентрации ферментного препарата установлено, что с повышением его концентрации с 1 до 8 г/кг сырья выход белкового гидролизата и степень гидролиза белка увеличивались. Однако при этом повышалось количество низкомолекулярных пептидов, что приводило к снижению органолептических характеристик продукта – появлялся горьковатый привкус и усиливался рыбный запах.

Таким образом, для использования в пищевых системах подходит только гидролизат, полученный под действием фермента Протозима В, при этом возможно изменять его концентрацию, либо сокращать продолжительность процесса ферментации. Для получения высокого выхода белковых гидролизатов микробиологического назначения наиболее подходят ферментные препараты Панкреатин и Алкалаза 2,4 L FG.

Ключевые слова. Рыбные белковые гидролизаты, атлантическая треска, отходы переработки рыбы, ферментативный гидролиз, пищевые технологии

Для цитирования: Кучина Ю. А., Колотова Д. С., Толстикова В. В., Василевич В. В., Деркач С. Р. Ферментативные рыбные белковые гидролизаты из отходов переработки атлантической трески: влияние типа и концентрации фермента. Техника и технология пищевых производств. 2026. Т. 56. № 1. С. 1–15. <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2026-1-2618>

Effect of Enzyme Type and Concentration on Fish Protein Hydrolysates from *Gadus morhua* Processing Waste



Yulia A. Kuchina¹, Daria S. Kolotova¹, Vladislav V. Tolstikov²,
Vasily V. Vasilevich², Svetlana R. Derkach^{1,*}

¹ Murmansk Arctic University^{ORCID}, Murmansk, Russia

² Eko Fish Ltd, St. Petersburg, Russia

Received: 14.05.2025

Revised: 15.08.2025

Accepted: 13.01.2026

* e-mail: derkachsr@mauniver.ru

© Yu.A. Kuchina, D.S. Kolotova, V.V. Tolstikov, V.V. Vasilevich,
S.R. Derkach, 2026



Abstract.

Fish processing waste is a secondary raw material that can be used as part of value-added product systems. Fish protein hydrolysates contain essential amino acids and biologically active peptides that can be included in food formulations. This article introduces an improved enzymatic hydrolysis technology for obtaining protein hydrolysates from secondary fish raw materials.

The study featured Central-East Atlantic cod (*Gadus morhua*) and its processing waste, which included protein-containing backbones, muscle tissue, and fins. Five different enzymes (Pancreatin, Collagenase, Protozyme B, Alcalase 2.4 L FG, and Enzy-Mix U) were applied in a wide range of concentrations. The new technology involved one additional step to improve the sensory properties: protein hydrolysates were treated with an acetic acid solution. The alkaline dissolution stage was also optimized to increase the degree of protein solubility. The resulting hydrolysates underwent a chemical analysis and high-performance liquid chromatography. Other tests made it possible to reveal their amino acid composition and molecular weight distribution.

The fish protein hydrolysates demonstrated a high protein content of 85–90% and a high amino acid ratio (110–190%) for virtually all essential amino acids. The product yield ranged from 22 to 55%. As the concentration increased from 1 to 8 g per 1 kg of raw material, the yield of protein hydrolysate and the degree of protein hydrolysis also increased. However, the amount of low-molecular-weight peptides also grew, which spoils the sensory profile (bitter taste, strong fishy smell).

Only Protozyme proved suitable for the food industry: its concentration could be varied whereas the enzymolysis time could be shortened, if necessary. Pancreatin and Alcalase 2.4 L FG provided high-yield protein hydrolysates for microbiological use.

Keywords. Fish protein hydrolysate, *Gadus morhua*, fish processing waste, enzymatic hydrolysis, food technology

For citation: Kuchina YuA, Kolotova DS, Tolstikov VV, Vasilevich VV, Derkach SR. Effect of Enzyme Type and Concentration on Fish Protein Hydrolysates from *Gadus morhua* Processing Waste. Food Processing: Techniques and Technology. 2026;56(1):1–15. (In Russ.) <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2026-1-2618>

Введение

Гидролизаты рыбного белка, получаемые из рыбного сырья, являются перспективными пищевыми ингредиентами [1, 2] и источниками различных аминокислот и биологически активных пептидов [3]. Интерес к изучению потенциального использования рыбных белковых гидролизатов (РБГ) в качестве пищевой добавки для производства функциональных продуктов питания неуклонно возрастает [4, 5]. Нутрицевтики, которые содержат гидролизаты белка, могут использоваться для профилактики и лечения различных заболеваний [6, 7], включая онкологические и сердечно-сосудистые [6, 8], гипертонию [9] и сахарный диабет 2 типа [10]. Гидролизаты рыбного белка и биоактивные пептиды проявляют антиоксидантную и антимикробную активность [11] и поэтому могут рассматриваться как заменители синтетических анти-

оксидантов для подавления окислительных процессов и продления сроков хранения продуктов [12, 13].

Гидролизаты рыбного белка могут быть включены в микробиологические питательные среды [14] в качестве источников пептонов – азотистых соединений пептидного происхождения. Они являются прекрасной альтернативой пептонам животного и / или растительного происхождения, поскольку не контактируют с прионами, вызывающими губчатую энцефалопатию крупного рогатого скота [15], и не подвергаются возможному генетическим модификациям, как это наблюдается с аналогичными веществами растительного происхождения [16]. Микробиологические питательные среды, обогащенные пептонами на основе гидролизатов рыбных белков, могут быть использованы для культивирования многих видов микроорганизмов, что обусловлено небольшой

длиной пептидов и большим количеством свободных аминокислот в их составе.

Гидролизаты рыбного коллагена считаются функциональными ингредиентами для производства различных косметических средств (крема, эмульсии, сыворотки) против старения кожи из-за их превосходных увлажняющих свойств [17, 18]. Также гидролизаты рыбного белка могут найти применение в качестве вкусоароматических и питательных ингредиентов в производстве кормов для животных [19].

Основным сырьем для промышленного производства РБГ являются отходы переработки рыбы. Рыбная промышленность ежегодно производит миллион тонн рыбных отходов, таких как шкуры, головы, плавники, внутренности, кости и т. д. Среднее содержание побочных продуктов составляет около 50 %, но в некоторых случаях варьируется от 10 до 90 % в зависимости от вида рыбы [20, 21]. Отходы переработки рыбы служат ценным источником незаменимых аминокислот, коллагена, полиненасыщенных жирных кислот и ферментов [22], а содержание белка в них колеблется от 8 до 35 % [23]. Однако в настоящее время рыбные отходы используются в промышленности в ограниченных количествах [20]. Существует острая необходимость в новых эффективных технологиях получения гидролизатов белков с учетом видов рыб. Разработка таких технологий будет способствовать глубокой переработке морских биологических ресурсов и созданию безотходных производств, что имеет важное значение для решения экологических проблем и вопросов охраны окружающей среды.

Традиционные методы получения гидролизатов белков включают химические (с использованием кислот и щелочей) и биологические (с использованием протеолитических ферментов) методы. Широко используется также термический способ гидролиза белоксодержащего рыбного сырья с применением высокотемпературного воздействия [24], которое в ряде случаев комбинируют с ферментативным воздействием [25].

Химический гидролиз белков рыб имеет ряд недостатков, среди которых использование концентрированных кислот и щелочей (при их нейтрализации образуется большое количество солей, также подлежащее удалению); частичное разрушение некоторых нестабильных аминокислот в кислой среде и коррозия оборудования под воздействием кислот. При химическом гидролизе в щелочной среде наблюдается изменение конфигурации аминокислот: часть L-аминокислот превращается в D-аминокислоты. Эти превращения снижают качество гидролизатов белков рыб и ограничивают их применение. Ферментативный гидролиз, который происходит под действием протеолитических ферментов, имеет ряд преимуществ. Процесс происходит в мягких условиях при значениях pH менее 8 и температурах 40–60 °C [26, 27], что исключает разрушение и трансформацию аминокислот, а также другие нежелательные побочные реакции.

Аминокислотный состав гидролизата рыбного белка, полученного методом ферментативного гидролиза, идентичен аминокислотному составу исходного белка.

Используемые ферменты проявляют свойства, уникальные для белковых веществ: они термолabileльны и обладают pH-зависимой и субстрат-специфической активностью [28]. В результате ферменты значительно различаются по своей эффективности в отношении рыбных белков.

Контролируемый ферментативный гидролиз может улучшить функциональные свойства гидролизатов рыбных белков [29, 30] и сделать их более привлекательными для использования в пищевых рецептурах [31, 32].

Цель исследования – оптимизировать традиционную технологию получения белкового гидролизата из вторичного рыбного сырья с использованием ферментативного гидролиза. В работе использовались пять различных ферментов, обоснован выбор наиболее эффективного фермента с учетом его протеолитических свойств. Задачи исследования включали изучение физико-химических и технологических свойств ферментативных гидролизатов рыбных белков, а также определение влияния типа и концентрации фермента на свойства гидролизатов, предварительной кислотной обработки белоксодержащего сырья на органолептические свойства гидролизатов, времени ферментации на свойства рыбных белковых гидролизатов. В работе обсуждались рекомендации по практическому использованию полученных ферментативных белковых гидролизатов.

Объекты и методы исследования

Сырье. Атлантическая треска (*Gadus morhua*) выловлена в Центрально-Восточном районе Атлантики и доставлена в порт Мурманск (Россия), где была переработана в филе. Отходы этого процесса использовались в работе в качестве белоксодержащего рыбного сырья (хребты с остатками мышечной ткани и плавников). Отходы заморозили и хранили в течение 1 месяца при температуре не выше –18 °C. Химический состав белоксодержащего сырья: белок $10,9 \pm 0,4$ мас. %, влага $75,9 \pm 0,1$ мас. %, жир $0,60 \pm 0,05$ мас. %, минеральные вещества $12,5 \pm 0,4$ мас. %. Все химические реактивы, примененные в данной работе, были аналитической степени чистоты (Pro Analysis, Россия).

Ферменты. В работе использовали пять ферментных препаратов:

1. Панкреатин (ICN Biochemicals, США) – выделен из поджелудочной железы крупного рогатого скота и свиней; порошок светло-желтого цвета с характерным запахом, малорастворимый в воде; проявляет активность при pH 7,9–8,5 и 45–50 °C.

2. Коллагеназа (ООО ТД «Биопрепарат», Россия) – получена в результате культивирования селекционированного штамма бактерий *Streptomyces lavendulae* с последующей очисткой и концентрированием;

порошок желтого цвета с характерным запахом; проявляет активность при pH 7,0–9,0 и 35–55 °С.

3. Протеаза бактериальная щелочная – Протозим В (ООО ТД «Биопрепарат», Россия) – получен путем культивирования выделенного направленной селекцией природного штамма микроорганизмов *Bacillus licheniformis* с последующей очисткой и концентрированием, без применения технологий геной инженерии; порошок светло-желтого цвета; проявляет активность при pH 6,0–10,0 и 55–65 °С.

4. Алкалаза 2,4 L FG (Novozymes, Дания) – высокоэффективная бактериальная протеаза, специально разработанная для гидролиза всех видов белка; жидкость коричневого цвета, pH 5,2; проявляет активность при pH 6,0–8,5 и 40–45 °С.

5. Энзи-Микс У (ООО «Завод эндокринных ферментов», Россия) – энзимный препарат животной природы, содержащий комплекс кислых протеаз; порошок белого цвета; проявляет активность при pH 4,5–6,0 и 35–40 °С.

Получение рыбных белковых гидролизатов.

Рыбные белковые гидролизаты (РБГ) получены из отходов рыбопереработки атлантической трески в соответствии с технологической схемой, приведенной на рисунке 1.

Сырье размораживали при температуре 12 ± 2 °С. В ходе предварительной подготовки сырье измельчали (диаметр отверстий решетки 5 мм) и смешивали с дистиллированной водой в массовом соотношении 1:2. Затем смесь нагревали до температуры 40 ± 2 °С и доводили pH водной фазы до значений 8,5–9,0 5 М рас-

твором едкого натра. При этих условиях проводили щелочное растворение белков в течение 1 ч, постоянно перемешивали.

В реакционную смесь вносили ферментный препарат в количестве от 1,0 до 12,0 г/кг сырья; время внесения ферментного препарата считалось началом ферментации. Ферментативный гидролиз проводили в течение 3 ч при температуре 50 ± 1 °С и постоянном перемешивании. Начальное значение pH реакционной среды – 8,0–8,5; конечное значение pH (через 3 ч) – 6,8–7,6 (при использовании Панкреатина, Коллагеназы, Протозима В, Алкалазы 2,4 L FG) и 6,5 (при использовании Энзи-Микс У). Уменьшение pH происходило в результате гидролитического расщепления белка до свободных аминокислот и пептидных фрагментов.

По окончании ферментации для инактивации ферментного препарата реакционную смесь нагревали до $t = 90–95$ °С и выдерживали при постоянном перемешивании в течение 5–10 мин.

Затем реакционную смесь направляли на фильтрацию и центрифугирование для удаления негидролизованного сырья. В качестве фильтра использовали фильтровальную ткань бельтинг или несколько слоев фильтровальной бумаги марки «Черная лента». Центрифугирование проводили при 8000 об/мин в течение 40 мин.

Полученный раствор рыбного белкового гидролизата сушили в лиофильной сушилке FreeZone (Lab-conco, США) при температуре -50 °С и остаточном давлении 4–6 Па. Высушенный РБГ измельчали до размера частиц не более 0,2 мм.



Рисунок 1. Технологическая схема получения ферментативного рыбного белкового гидролизата

Figure 1. Technological scheme for obtaining enzymatic fish protein hydrolysate

Рыбный белковый гидролизат представляет собой однородный мелкодисперсный порошок, хорошо растворимый в воде.

Выход РБГ, %, рассчитывали по формуле (1):

$$\text{Выход} = \frac{m}{M} \times 100 \quad (1)$$

где m – масса сухого гидролизата, г; M – масса сухого сырья (с содержанием влаги не более 10 %), г.

Химический анализ белоксодержащего сырья и рыбных белковых гидролизатов (РБГ). Содержание влаги, жира, общего азота и минеральных веществ в сырье и РБГ определяли по стандартным методикам [33]. Влажность образцов определяли после их высушивания до постоянного веса при температуре 105 ± 5 °С; количество жира – методом Сокслета (экстракция растворителем); минеральных веществ – сжиганием образцов в муфельной печи при температуре 550 ± 10 °С.

Массовую долю общего азота (N_{TN} , %) определяли по методу Кьельдаля. Сущность метода заключается в разложении органического вещества пробы кипящей концентрированной серной кислотой с образованием солей аммония, переводе их в аммиак, отгонки аммиака паром в раствор серной кислоты, количественном определении аммиака методом обратного титрования.

Массовую долю веществ белковой природы, %, рассчитывали по формуле (2):

$$\text{Белок} = N_{\text{TN}} \times 6,25 \quad (2)$$

где 6,25 – это фактор пересчета количества общего азота на белок.

Массовую долю аминного азота (N_{AN} , %) определяли методом формольного титрования, который основан на связывании аминогрупп с формалином и косвенном определении их количества по результатам титрования карбоксильных групп.

Значения pH растворов (1,0 %) белковых гидролизатов определяли pH-метром Эксперт-001.

Степень гидролиза, %, рассчитывали по формуле (3):

$$\text{Степень гидролиза} = \frac{N_{\text{AN}}}{N_{\text{TN}}} \times 100 \quad (3)$$

где N_{AN} – массовая доля аминного азота, %; N_{TN} – массовая доля общего азота, %.

Молекулярно-массовое распределение. Молекулярно-массовое распределение РБГ определяли методом ВЭЖХ с использованием хромато-масс-спектрометра LCMS-QP8000 (Shimadzu, Япония) со спектрофотометрическим детектором (модель SPD – 10 AVVP) при $\lambda = 280$ нм. Хроматографическое разделение проводили на колонке Tosoh TSKgel Alpha-2500 (Tosoh Bioscience, Япония) при 25 °С в изократическом режиме, скорость потока 0,8 мл/мин, элюент – водный раствор NaCl с концентрацией 0,15 моль/л, объем пробы

10 мкл. Для калибровки колонки использовали белки с известной молекулярной массой от 12,4 (цитохром С) до 200 кДа (β -амилаза, Sigma-Aldrich, США); коэффициент корреляции 0,96. Среднемассовую молекулярную массу (M_w , кДа) рассчитывали по уравнению (4):

$$\lg M_w = -0,6617 \times V + 9,0638 \quad (4)$$

где V – объем элюента, прошедший через колонку, мл.

Молекулярно-массовое распределение образцов определяли также методом гель-проникающей хроматографии. Условия анализа: элюент – 0,5 М раствор уксусной кислоты; скорость потока – 0,8 мл/мин; $t = 30$ °С; детектор ELSD (низкотемпературный испарительный детектор светорассеяния); колонка TSK-GEL G3000SWXL (Tosoh Bioscience, Япония) – 7,8 мм ID \times 30,0 см L, 5 мкм.

Аминокислотный состав. Аминокислотный состав белоксодержащего сырья и РБГ изучали методом ВЭЖХ, система LC-20 AD Prominence (Shimadzu, Япония) с реакционным модулем для пост-колоночной дериватизации APM-1000 (Sevko&Co, Россия) и колонкой с ионообменной смолой $4,6 \times 150$ мм (Sevko&Co, Россия).

Для пробоподготовки образцы подвергали гидролизу в растворе 6 М соляной кислоты (110 °С, 24 ч). Для определения цистеина и метионина образцы перед гидролизом обрабатывали растворами окислителей (Sevko&Co, Россия) до их полного окисления. После окончания гидролиза образцы сушили. Сухой остаток растворяли в натрий-цитратном буферном растворе (Sevko&Co, Россия) и пропускали через фильтр с диаметром пор 0,45 мкм (Agilent, США). Использовали стандартный образец раствора аминокислот (Sykam, Германия) для контроля качества измерений.

Аминокислотный скор (AAS, %) – отношение количества незаменимой аминокислоты (ЕАА) в исследуемом белке к количеству этой же аминокислоты в идеальном белке рассчитывали по уравнению (5):

$$\text{AAS} = \frac{\text{г ЕАА на 100 г исследуемого белка}}{\text{г ЕАА на 100 г идеального белка}} \times 100 \quad (5)$$

Результаты и их обсуждение

Влияние типа фермента на свойства рыбного белкового гидролизата (РБГ). Для получения ферментативных РБГ использовали пять различных видов ферментативных препаратов – Панкреатин, Коллагеназа, Протозим В, Алкалаза 2,4 L FG, Энзи-Микс У. Изучено влияние типа ферментного препарата на свойства полученных белковых рыбных гидролизатов.

Органолептические свойства полученного продукта во многом определяют способ его использования в качестве пищевых ингредиентов. Ферментативные белковые гидролизаты представляют собой однородные мелкодисперсные порошки от светло-бежевого до желтого цвета, хорошо растворимые в воде (рис. 2). На этом этапе почти все полученные образцы РБГ,

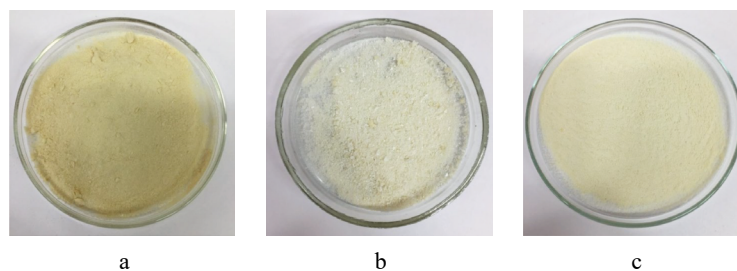


Рисунок 2. Образцы рыбных белковых гидролизатов, полученные ферментативным гидролизом с использованием различных ферментных препаратов: а – Панкреатин; б – Протозим В; с – Алкалаза 2,4 L FG

Figure 2. Fish protein hydrolysates obtained by enzymatic hydrolysis using various enzymes: a – Pancreatin; b – Protozyme B; and c – Alcalase 2.4 L FG

независимо от вида используемого фермента, имели рыбный запах, за исключением гидролизата, полученного с использованием фермента Энзи-Микс У. Этот фермент проявляет активность в кислой среде в растворе уксусной кислоты, поэтому ферментативный РБГ имеет слабый запах уксуса. Для получения гидролизатов рыбных белков используют и другие ферменты, например Протеиназу; гидролизаты обладают улучшенными функциональными свойствами [34].

Химический состав РБГ, полученных под действием различных ферментных препаратов, представлен в таблице 1.

Содержание белка в образцах составляло 85–88 %, содержание влаги не превышало 10 %. В выявленных образцах жир не обнаружен. Тип использованного ферментного препарата влияет на свойства продуктов. Рыбные белковые гидролизаты, полученные под действием Панкреатина и Алкалазы, имели наибольший выход продукта (49,1 и 54,8 %) и характеризовались высоким содержанием аминного азота, что свидетельствует о высокой степени гидролиза (более 25 %). В работе [36] визуализация рассеяния RGB-лазера в сочетании с процедурами машинного обучения используется для прогнозирования степени протеолиза рыбных субпродуктов. Рыбные белковые гидролизаты с высокой степенью гидролиза, содержащие большое количество свободных аминокислот и низкомолекулярных пептидов, могут быть использованы в составе микробиологических питательных сред.

Также в таблице 1 представлен аминокислотный состав рыбных белковых гидролизатов, полученных из белоксодержащего сырья – отходов переработки атлантической трески с использованием разных ферментов. Присутствие незаменимых аминокислот определяет биологическую и пищевую ценность полученного продукта. Показано высокое содержание аспарагиновой и глутаминовой кислот, что характерно для ферментативных гидролизатов рыбных белков [37].

Анализ аминокислотного состава показал, что гидролизат, полученный под действием фермента Энзи-Микс У, содержит наименьшее количество незаменимых

аминокислот (27,3 г/100 г белка). Использование щелочных протеиназ увеличивает содержание незаменимых аминокислот в гидролизатах до 38,0–39,9 г/100 г белка. Гидролизат, полученный с использованием Алкалазы 2,4 L FG, характеризуется наибольшей степенью расщепления белка (31,4 %) и выходом (54,8 %). Однако, высокая степень гидролиза приводит к увеличению / накоплению в готовом продукте свободных аминокислот и низкомолекулярных пептидов со среднемассовой молекулярной массой 10 кДа, что снижает органолептические показатели, а именно ухудшается вкус – появляется горечь. Кроме того, Алкалаза 2,4 L FG – самый дорогой фермент из изученных / рассмотренных в данной работе, что при использовании на производстве увеличит себестоимость готового продукта. Ферменты Панкреатин и Протозим В обеспечивают высокую степень гидролиза белка: 26,8 % – для Панкреатина и 17,7 % – для Протозима В, а также высокий выход готового продукта – 49,1 и 33,8 %; гидролизаты характеризуются высоким аминокислотным скором практически по всем незаменимым аминокислотам (табл. 1). Поэтому дальнейшие исследования в работе выполнены с ферментативными препаратами Панкреатином и Протозимом В.

Влияние концентрации ферментного препарата.

Следующий этап исследования – изучение влияния концентрации ферментативного препарата на свойства полученных рыбных белковых гидролизатов. В качестве ферментного препарата использовали Панкреатин. Результаты представлены в таблице 2 и на рисунке 3.

Изменение концентрации Панкреатина не оказывает заметного влияния на количество общего азота (N_{TN} , %) и, соответственно, содержание белка в гидролизате. Повышение концентрации ферментного препарата с 1 до 3 г/кг сырья приводило к увеличению степени гидролиза на 5 %, выход продукта при этом увеличивался более чем на 7 %. Также было показано [38], что тип фермента (Алкалаза, Новозим или Протеаза), соотношение фермента и субстрата, температура гидролиза и время влияют на степень гидролиза, анти-

Таблица 1. Характеристика белоксодержащего сырья и рыбных белковых гидролизатов, полученных под действием различных ферментных препаратов ($C_{\text{ФП}} = 1$ г/кг сырья)

Table 1. Protein-containing raw materials and enzymatic fish protein hydrolysates obtained from various enzymes, CE = 1 g/kg raw materials

Показатели	Мышечная ткань трески	Белоксодержащее сырье	Ферментный препарат					Идеальный белок*, г/100 г белка	AAS**, %
			Энзимкс У	Коллагеназа	Протозим В	Панкреатин	Алкалаза 2,4 L FG		
рН водного раствора	–	–	6,1 ± 0,1	7,3 ± 0,1	7,1 ± 0,1	6,9 ± 0,1	6,7 ± 0,1	–	–
Влажность, %	80,6 ± 0,5	75,9 ± 0,1	4,5 ± 0,1	9,0 ± 0,2	5,1 ± 0,2	8,8 ± 0,1	9,0 ± 0,2	–	–
Аминный азот, N_{AN} , %	–	–	2,3 ± 0,1	1,3 ± 0,1	2,5 ± 0,1	3,7 ± 0,1	4,3 ± 0,2	–	–
Общий азот, N_{TN} , %	–	–	13,6 ± 0,2	13,3 ± 0,2	14,1 ± 0,2	13,8 ± 0,2	13,7 ± 0,1	–	–
Белок, %	18,1 ± 1,0	10,9 ± 0,4	85,0 ± 0,8	83,1 ± 0,8	88,1 ± 0,8	86,3 ± 0,8	85,6 ± 0,5	–	–
Зола, %	1,4 ± 0,1	12,5 ± 0,4	10,5 ± 0,4	7,9 ± 0,3	6,8 ± 0,4	4,9 ± 0,4	5,4 ± 0,2	–	–
M_w , кДа	–	–	63,6 ± 2,0	62,5 ± 1,5	30,0 ± 1,1	18,1 ± 0,9	10,1 ± 0,8	–	–
Степень гидролиза, %	–	–	16,9 ± 0,5	9,8 ± 0,3	17,7 ± 0,5	26,8 ± 0,4	31,4 ± 0,4	–	–
Выход, %	–	–	22,8 ± 0,5	25,8 ± 0,5	33,8 ± 0,5	49,1 ± 0,5	54,8 ± 0,5	–	–
Незаменимые аминокислоты, г/100 г белка, в т. ч.:	46,7 ± 1,7	34,9 ± 1,8	27,3 ± 1,6	38,0 ± 1,3	39,1 ± 1,6	38,0 ± 1,3	39,9 ± 1,3	27,1 ± 1,1	–
Треонин*	4,1 ± 0,3	3,6 ± 0,5	2,6 ± 0,3	3,0 ± 0,3	3,3 ± 0,4	4,1 ± 0,4	3,2 ± 0,3	2,3 ± 0,2	178
Валин*	5,1 ± 0,5	3,7 ± 0,7	2,6 ± 0,4	3,6 ± 0,4	4,0 ± 0,4	4,4 ± 0,4	4,1 ± 0,4	3,9 ± 0,4	113
Метионин*	2,8 ± 0,6	2,9 ± 0,4	2,3 ± 0,6	2,9 ± 0,2	2,8 ± 0,3	1,4 ± 0,2	2,9 ± 0,3	2,2 ± 0,2	82
Цистеин*	1,1 ± 0,4	0,9 ± 0,3	0,7 ± 0,2	0,4 ± 0,1	0,9 ± 0,2	0,4 ± 0,1	0,9 ± 0,2	–	–
Изолейцин*	4,1 ± 0,5	3,2 ± 0,5	2,0 ± 0,3	3,1 ± 0,3	3,3 ± 0,4	4,0 ± 0,4	3,6 ± 0,3	3,0 ± 0,3	133
Лейцин*	7,8 ± 0,8	6,3 ± 0,7	5,0 ± 0,8	7,3 ± 0,6	8,2 ± 0,7	7,5 ± 0,6	8,2 ± 0,8	5,9 ± 0,6	127
Тирозин*	3,2 ± 0,3	2,4 ± 0,4	1,9 ± 0,5	3,4 ± 0,2	2,0 ± 0,3	3,3 ± 0,3	3,3 ± 0,4	3,8 ± 0,4	192
Фенилаланин*	3,4 ± 0,5	3,4 ± 0,7	2,1 ± 0,5	3,3 ± 0,3	2,7 ± 0,4	4,0 ± 0,4	2,8 ± 0,3	–	–
Лизин*	10,8 ± 0,7	6,5 ± 0,8	5,5 ± 0,7	7,6 ± 0,7	8,4 ± 0,8	8,2 ± 0,7	7,4 ± 0,6	4,5 ± 0,4	182
Гистидин*	4,3 ± 0,6	2,0 ± 0,4	2,6 ± 0,6	3,4 ± 0,6	3,5 ± 0,7	0,7 ± 0,2	3,5 ± 0,2	1,5 ± 0,2	47
Заменимые аминокислоты, г/100 г белка, в т. ч.:	48,4 ± 1,6	64,8 ± 1,8	73,8 ± 1,8	66,0 ± 1,9	63,1 ± 1,9	66,3 ± 1,8	57,2 ± 1,7	–	–
Аспарагиновая кислота	9,3 ± 0,8	8,0 ± 0,7	9,3 ± 0,8	10,3 ± 0,9	10,7 ± 0,9	9,0 ± 0,9	10,4 ± 0,9	–	–
Серин	4,0 ± 0,4	5,3 ± 0,5	4,6 ± 0,5	4,2 ± 0,4	4,0 ± 0,4	5,5 ± 0,5	3,5 ± 0,3	–	–
Глутаминовая кислота	15,1 ± 0,9	12,0 ± 0,8	15,7 ± 0,9	17,8 ± 0,9	18,9 ± 1,1	14,0 ± 0,9	16,8 ± 1,1	–	–
Глицин	4,1 ± 0,3	16,3 ± 0,9	27,9 ± 0,8	19,4 ± 1,1	16,5 ± 0,9	14,5 ± 1,1	14,2 ± 0,9	–	–
Аланин	5,8 ± 0,6	8,5 ± 0,8	9,7 ± 0,7	8,5 ± 0,8	7,9 ± 0,8	8,8 ± 0,8	7,3 ± 0,7	–	–
Аргинин	6,0 ± 0,6	8,7 ± 0,7	2,9 ± 0,3	3,0 ± 0,3	2,7 ± 0,3	9,3 ± 0,7	2,3 ± 0,3	–	–
Пролин	4,1 ± 0,4	6,0 ± 0,5	3,7 ± 0,4	2,8 ± 0,3	2,4 ± 0,2	5,2 ± 0,4	2,7 ± 0,3	–	–

Примечание: * – данные из [35]; ** – AAS (аминокислотный скор) рассчитан для рыбного белкового гидролизата с Панкреатином.

Note: * – according to [35]; ** – amino acid score (AAS) was calculated for fish protein hydrolysates obtained from Pancreatin.

оксидантную активность и другие связанные физико-химические свойства белковых гидролизатов.

Содержание незаменимых аминокислот в белковых гидролизатах, полученных с использованием ферментного препарата Панкреатина, значительно превышает аналогичные показатели в идеальном белке. Аминокислотный скор превышает 100 % для всех незаменимых аминокислот (кроме гистидина).

Молекулярно-массовое распределение полученных гидролизатов представлено на рисунке 3. Независимо от концентрации ферментного препарата на хро-

матограммах регистрируется три пика: первый соответствует белковым фракциям с молекулярной массой около 50–60 кДа, второй – 20–30 кДа, третий – менее 15 кДа. При увеличении концентрации ферментного препарата Панкреатина наблюдается небольшое смещение пиков в область низких значений средне-массовых молекулярных масс гидролизатов. Гидролизат, полученный при $C_{\text{ФП}} = 1$ г/кг сырья, имеет более широкое молекулярно-массовое распределение. Среднемассовая молекулярная масса, рассчитанная по правилу аддитивности, составила 18,1 кДа –

Таблица 2. Характеристика рыбных белковых гидролизатов, полученных с использованием Панкреатина различных концентраций

Table 2. Fish protein hydrolysates obtained from different concentrations of Pancreatin

Показатели	Концентрация Панкреатина, г/кг сырья				Идеальный белок*, г/100 г белка	AAS**, %
	1	3	6	12		
рН водного раствора	6,9 ± 0,1	9,6 ± 0,2	6,5 ± 0,1	6,4 ± 0,1	–	–
Влажность, %	9,5 ± 0,1	9,6 ± 0,2	9,8 ± 0,2	9,5 ± 0,4	–	–
Аминный азот, N_{AN} , %	3,7 ± 0,1	4,3 ± 0,1	4,4 ± 0,1	4,6 ± 0,1	–	–
Общий азот, N_{TN} , %	13,8 ± 0,2	13,5 ± 0,2	13,9 ± 0,2	13,6 ± 0,2	–	–
Белок, %	86,3 ± 0,8	84,4 ± 0,5	86,8 ± 0,5	85,0 ± 0,5	–	–
Зола, %	4,5 ± 0,4	5,9 ± 0,3	3,4 ± 0,3	5,3 ± 0,2	–	–
M_w , кДа	18,1 ± 0,6	16,7 ± 0,9	16,4 ± 0,7	12,6 ± 0,8	–	–
Степень гидролиза, %	26,8 ± 0,4	31,8 ± 0,6	31,6 ± 0,8	33,8 ± 0,6	–	–
Выход, %	49,1 ± 0,8	56,8 ± 0,9	56,5 ± 1,0	56,0 ± 1,5	–	–
Незаменимые аминокислоты, г/100 г белка, в т. ч.:	38,0 ± 1,3	36,5 ± 1,2	35,6 ± 1,4	44,2 ± 1,5	–	–
Треонин*	4,1 ± 0,4	3,9 ± 0,3	4,0 ± 0,4	4,6 ± 0,5	2,3	200
Валин*	4,4 ± 0,4	4,4 ± 0,3	4,6 ± 0,4	5,2 ± 0,4	3,9	133
Метионин*	1,4 ± 0,2	1,3 ± 0,3	1,2 ± 0,3	2,6 ± 0,3	2,2	136
Цистеин*	0,4 ± 0,1	0,4 ± 0,1	0,4 ± 0,2	0,4 ± 0,3	–	–
Изолейцин*	4,0 ± 0,4	4,1 ± 0,5	3,8 ± 0,5	4,6 ± 0,4	3,0	153
Лейцин*	7,5 ± 0,6	7,5 ± 0,7	7,1 ± 0,6	8,7 ± 0,5	5,9	147
Тирозин*	3,3 ± 0,3	2,2 ± 0,2	3,2 ± 0,3	3,9 ± 0,3	3,8	216
Фенилаланин*	4,0 ± 0,4	3,5 ± 0,3	4,0 ± 0,5	4,3 ± 0,4	–	–
Лизин*	8,2 ± 0,7	7,8 ± 0,6	6,7 ± 0,5	9,2 ± 0,6	4,5	204
Гистидин*	0,7 ± 0,2	2,1 ± 0,3	0,6 ± 0,2	0,7 ± 0,1	1,5	47
Заменимые аминокислоты, г/100 г белка, в т. ч.:	66,3 ± 1,8	64,5 ± 1,7	67,0 ± 1,8	67,3 ± 1,9	–	–
Аспарагиновая кислота	9,0 ± 0,9	8,2 ± 0,7	8,8 ± 0,9	9,8 ± 0,8	–	–
Серин	5,5 ± 0,5	5,3 ± 0,4	5,7 ± 0,4	5,8 ± 0,5	–	–
Глутаминовая кислота	14,0 ± 0,9	12,9 ± 0,8	12,8 ± 1,0	15,6 ± 1,1	–	–
Глицин	14,5 ± 1,1	13,7 ± 0,9	16,5 ± 1,1	12,8 ± 1,2	–	–
Аланин	8,8 ± 0,8	8,3 ± 0,7	8,8 ± 0,7	8,2 ± 0,9	–	–
Гистидин	9,3 ± 0,7	2,1 ± 0,3	0,6 ± 0,1	0,7 ± 0,2	–	–
Аргинин	5,2 ± 0,4	9,0 ± 0,8	8,9 ± 0,7	9,5 ± 0,8	–	–

Примечание: * – данные из [35]; ** – AAS (аминокислотный скор) рассчитан для гидролизата, полученного при $C_{\text{ФП}} = 12$ г/кг сырья.

Note: * – according to [35]; ** – amino acid score (AAS) was calculated for fish protein hydrolysates obtained at CE = 12 g/kg raw material.

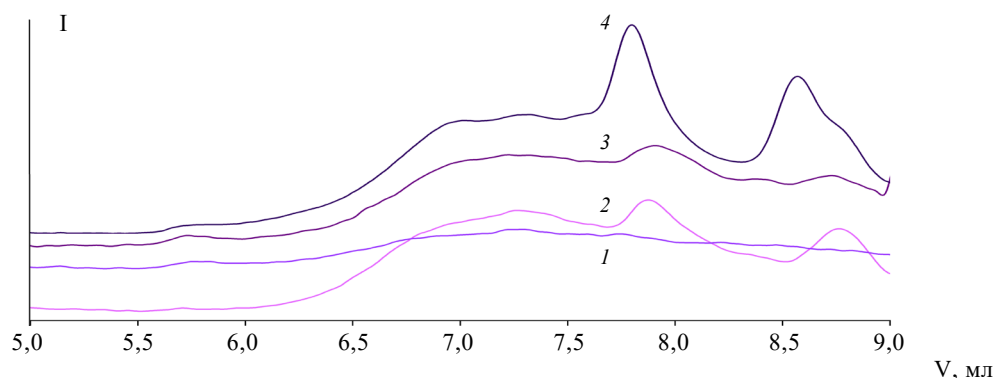


Рисунок 3. Хроматограммы для расчета молекулярно-массового распределения ферментативных белковых гидролизатов, полученные методом ВЭЖХ. Концентрации Панкреатина, г/кг сырья:

1 – 1; 2 – 3; 3 – 6; 4 – 12

Figure 3. Molecular weight distribution of enzymatic protein hydrolysates obtained by HPLC; enzymatic hydrolysates were obtained using different concentrations of Pancreatin, g/kg raw materials: 1 – 1; 2 – 3; 3 – 6; and 4 – 12

при ферментации с $C_{\text{ФП}} = 1$ г/1 кг сырья; 16,7 кДа – при $C_{\text{ФП}} = 3$ г/1 кг сырья; 16,4 кДа – при $C_{\text{ФП}} = 6$ г/1 кг сырья и 12,6 кДа – при $C_{\text{ФП}} = 12$ г/1 кг сырья.

Предварительная кислотная обработка белоксодержащего сырья. Образцы ферментативного рыбного белкового гидролизата, полученные в соответствии с технологической схемой, представленной на рисунке 1, имели рыбных запахов; для некоторых образцов он выражен незначительно. Это не является препятствием для использования их в капсулированном виде в качестве, например, компонента пищевых добавок. Однако при использовании рыбных белковых гидролизатов в составе пищевых систем (некапсулированных) возникает необходимость улучшения органолептических показателей (цвет, запах, вкус) и снижения количества минеральных солей, что позволит повысить качество и чистоту конечного продукта.

С целью улучшения органолептических свойств рыбных белковых гидролизатов в технологическую схему ввели дополнительную стадию – обработку сырья раствором уксусной кислоты (рис. 4). Обработка фарша органическими кислотами способствует удалению остатков крови, тканевого сока и небелковых азотистых летучих оснований, которые влияют на цвет и запах (органолептические свойства) продуктов из рыбы.

Обработку сырья проводили 0,35 М раствором уксусной кислоты при температурах 20–25 °С в течение 1 ч, массовое соотношение сырья:раствор кислоты 1:3. После обработки фарш промывали холодной водопроводной водой для удаления кислоты, значение рН промывных вод – не менее 5,0 (3–4 промывки). Характеристика гидролизатов, полученных с предварительной обработкой сырья раствором уксусной кислоты, представлена в таблице 3.

Введение кислотной обработки не повлияло на содержание белка в гидролизатах, содержание золы в образцах уменьшилось при использовании щелочных протеиназ. При использовании кислой Протеиназы (Энзи-Микс У) количество золы увеличилось вследствие введения дополнительной стадии нейтрализации для доведения рН готового продукта до нейтральных значений. Выход гидролизата снизился, что связано с потерей массы сырья на стадии кислотной обработки до 35–40 % от массы исходного сырья (табл. 1 и 3).

Для увеличения степени растворения белков проведена оптимизация стадии щелочного растворения белковых молекул. Результаты показали, что обязательным условием растворения белоксодержащего сырья является создание высокого гидромодуля реакционной среды (массовое соотношение вода:сырье не менее 4:1), что приводит к уменьшению концентрации

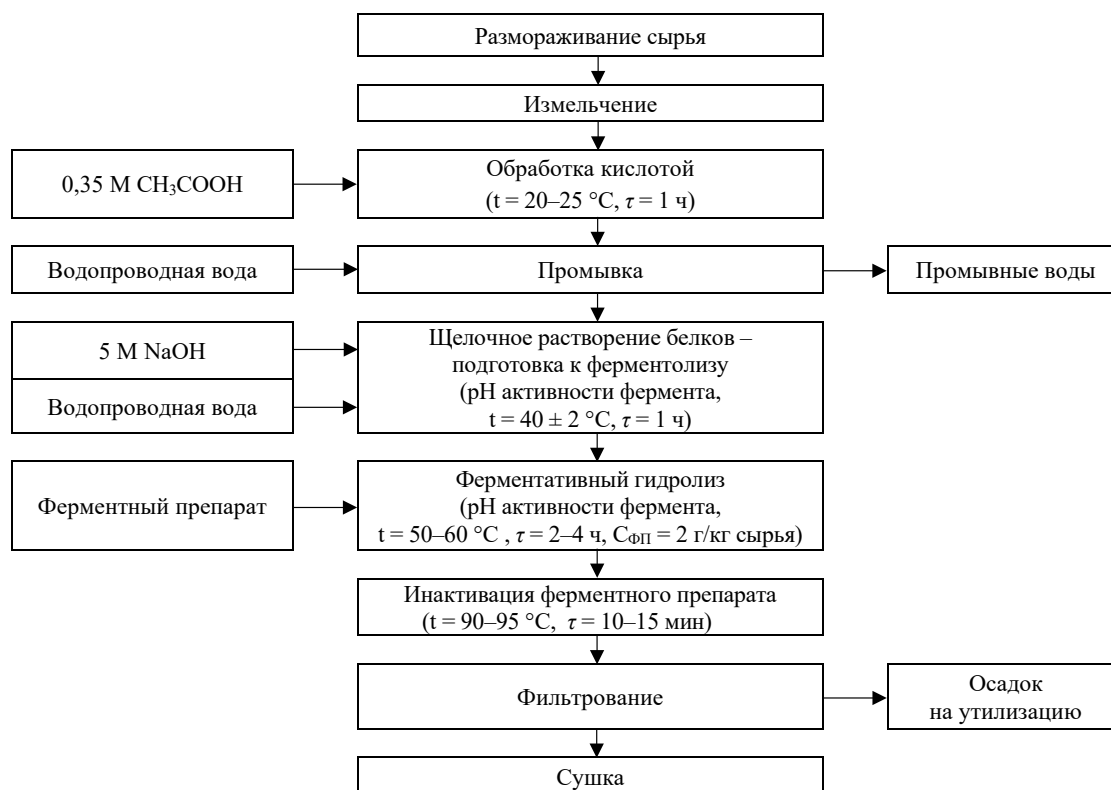


Рисунок 4. Технологическая схема получения белкового гидролизата, включающая стадию обработки сырья раствором уксусной кислоты

Figure 4. Technological scheme for producing protein hydrolysate, including the stage of processing raw materials with an acetic acid solution

Таблица 3. Характеристика рыбных белковых гидролизатов, полученных с предварительной кислотной обработкой сырья (концентрация уксусной кислоты 0,35 М) и с использованием разных ферментных препаратов ($C_{\text{ФП}} = 2$ г/кг сырья)

Table 3. Fish protein hydrolysate obtained with preliminary acid treatment (acetic acid, $C = 0.35$ M) and using various enzymes, $CE = 2$ g/kg raw materials

Показатели	Ферментный препарат			
	Энзи-Микс У	Протозим В	Панкреатин	Алкалаза 2,4 L FG
рН водного раствора	6,1 ± 0,2	6,9 ± 0,1	6,7 ± 0,1	6,5 ± 0,2
Влажность, %	7,7 ± 0,2	4,8 ± 0,4	7,3 ± 0,2	4,2 ± 0,5
Аминный азот, $N_{\text{АН}}$, %	1,4 ± 0,1	1,5 ± 0,1	2,1 ± 0,1	2,2 ± 0,1
Общий азот, $N_{\text{ТН}}$, %	13,6 ± 0,2	14,6 ± 0,1	14,4 ± 0,2	14,8 ± 0,1
Белок, %	85,0 ± 1,2	91,5 ± 0,4	89,8 ± 1,0	92,6 ± 0,6
Зола, %	7,3 ± 0,2	3,7 ± 0,1	2,9 ± 0,1	3,2 ± 0,1
Степень гидролиза, %	10,3 ± 0,6	10,3 ± 0,7	14,6 ± 0,5	14,9 ± 0,6
Выход, %	17,2 ± 0,4	30,8 ± 0,6	35,6 ± 0,5	38,8 ± 0,8
Органолептические характеристики*:				
Цвет (сухие РБГ)	белый	бежевый	светло-желтый	светло-желтый
Запах (раствор РБГ, $C = 4$ %)	уксусной кислоты	отсутствует	рыбный	слабый рыбный
Вкус (раствор РБГ, $C = 4$ %)	кислый	горькое послевкусие	рыбный, горькое послевкусие	рыбный, горький

белковых веществ в конечном продукте и необходимости введения дополнительной стадии перед процессом сушки – упаривание гидролизата. В качестве альтернативы концентрирование замораживанием можно рассматривать как наилучший вариант для сохранения гидролизатов рыбного белка, повышения их стабильности и сохранения их питательных и биологически активных свойств [39].

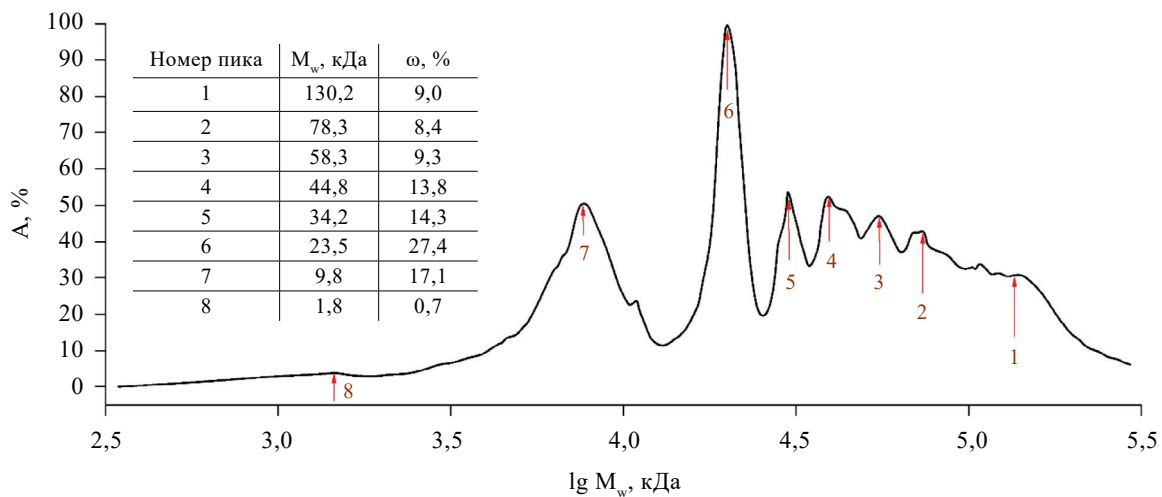
Химический анализ показал, что гидролизаты, полученные под действием ферментных препаратов: Панкреатина, Алкалазы 2,4 L FG и Протозима В, содержат более 90 % белковых веществ, наличие минеральных веществ не превышает 5 %; такие гидролизаты могут быть использованы в составе пищевых композиций. По органолептическим показателям для использования в пищевых системах подходит только гидролизат, полученный под действием фермента Протозима В. Для удаления горьковатого послевкусия можно снизить степень гидролиза, т. е. либо уменьшить концентрацию ферментного препарата, либо сократить продолжительность ферментации.

Влияние концентрации Протозима и времени ферментации на свойства рыбных белковых гидролизатов. С увеличением степени гидролиза в продукте накапливаются свободные аминокислоты, которые имеют горький вкус; это снижает качество гидролизатов как компонентов пищевых систем. Однако уменьшение степени гидролиза приводит к снижению выхода гидролизата и, соответственно, рентабельности производства. Поскольку концентрация ферментного препарата ($C_{\text{ФП}}$, г/кг сырья) и продолжительность гидролиза (τ , ч) связаны между собой, то при поиске оптимальных условий процесса ферментации мы варьировали эти параметры. Полученные ферментативные

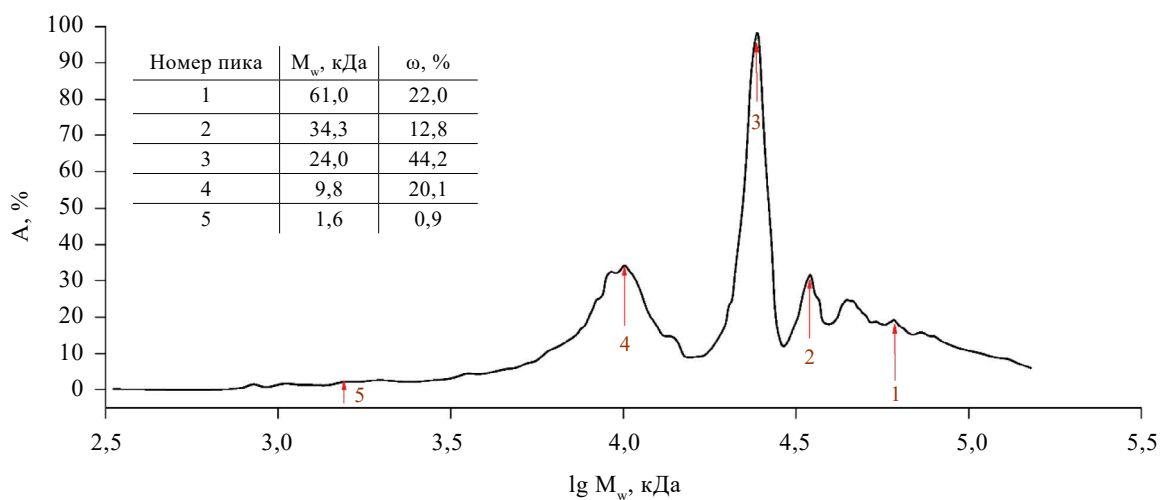
белковые гидролизаты представляли собой однородные мелкодисперсные порошки светло-бежевого или светло-желтого цвета, хорошо растворимые в воде. Молекулярно-массовое распределение полученных образцов рыбных белковых гидролизатов приведено на рисунке 5, характеристики полученных образцов в таблице 4.

Рыбные белковые гидролизаты, полученные при концентрации ферментного препарата Протозима 2, 4 и 8 г/кг сырья, имеют среднемассовую молекулярную массу (M_w) 42,9; 30,4 и 22,8 кДа соответственно (рис. 5). Отдельные фракции с разной молекулярной массой можно получить путем фракционирования с использованием полимерных спирально-навитых ультрафильтрационных мембран, как показано в работе [40]. При увеличении концентрации ферментного препарата снижается молекулярная масса конечного продукта, а выход продукта, напротив, увеличивается на 12 % (с 31,2 до 43,2 %) (табл. 4). Образцы содержат около 90 % белковых веществ, а количество минеральных веществ не превышает 4 %.

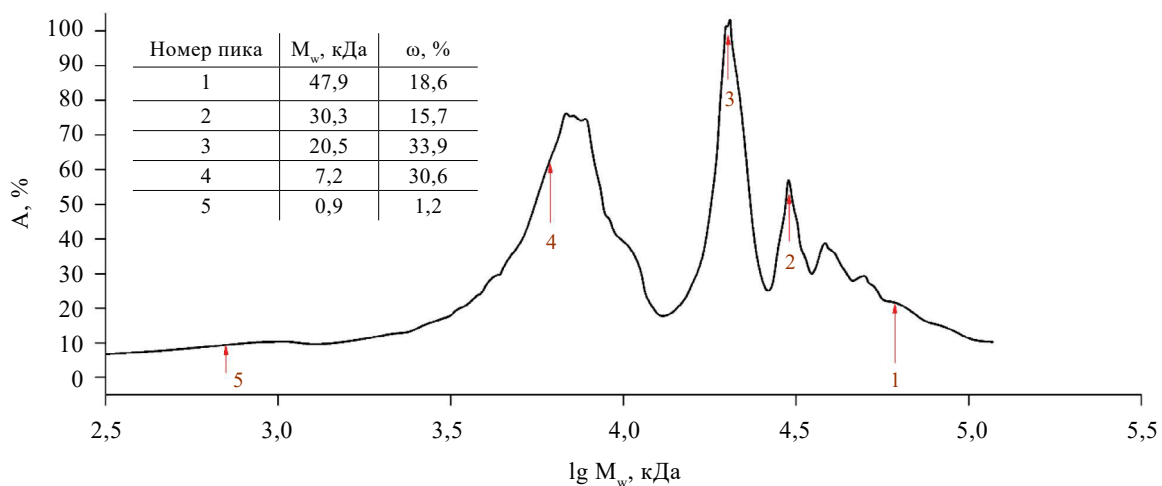
Образцы гидролизатов, полученные с использованием Протозима В разных концентраций от 1 до 8 г/кг сырья с предварительной кислотной обработкой белоксодержащего сырья, характеризуются отсутствием постороннего запаха. При использовании высоких концентраций ферментного препарата, превышающих 1,5 г/кг сырья, раствор гидролизата характеризуется слабой горечью на вкус или имеет горькое послевкусие. При использовании концентрации Протозима В 1,0 и 1,5 г/кг сырья растворы полученных гидролизатов не имеют постороннего вкуса. По своим органолептическим показателям они могут быть использованы в составе пищевых композиций.



a



b



c

Рисунок 5. Молекулярно-массовое распределение белковых гидролизатов, полученных по технологической схеме с предварительной обработкой сырья уксусной кислотой (рис. 4). Условия ферментализации: $t = 60\text{ }^\circ\text{C}$, $\tau = 4\text{ ч}$, концентрация ферментного препарата Протозима В, г/кг сырья: а – 2; б – 4; в – 8.

Использован метод геля-проникающей хроматографии

Figure 5. Molecular weight distribution of protein hydrolysates obtained by acetic acid pre-treatment (Fig. 4). Fermentolysis conditions: $t = 60\text{ }^\circ\text{C}$, $\tau = 4\text{ h}$, enzyme Protozyme B, g/kg raw materials: a – 2; b – 4; and c – 8. Gel permeation chromatography

Таблица 4. Влияние концентрации фермента и времени ферментализации на свойства рыбных белковых гидролизатов, полученных с предварительной обработкой сырья (Ферментный препарат – Протозим)

Table 4. Effect of enzyme concentration and fermentolysis time on fish protein hydrolysates obtained by acetic acid pre-treatment (Protozyme)

Показатели	Условия ферментализации									
	Концентрация ферментного препарата, г/кг сырья									
	1		1,05		2		4	8		
	55 °С, 3 ч	60 °С, 3 ч	55 °С, 2 ч	55 °С, 3 ч	55 °С, 1 ч	55 °С, 2 ч	60 °С, 4 ч	60 °С, 4 ч	60 °С, 4 ч	
Влажность, %	6,5 ± 0,1	6,1 ± 0,2	6,2 ± 0,1	5,9 ± 0,4	5,3 ± 0,5	6,3 ± 0,2	6,3 ± 0,2	6,4 ± 0,1	6,8 ± 0,1	
Общий азот, N_{TN} , %	14,4 ± 0,2	14,4 ± 0,2	14,5 ± 0,1	14,5 ± 0,1	14,6 ± 0,1	14,4 ± 0,2	14,5 ± 0,1	14,4 ± 0,2	14,4 ± 0,2	
Белок, %	90,0 ± 1,1	90,0 ± 1,1	90,6 ± 0,6	90,6 ± 0,6	91,2 ± 0,6	90,0 ± 1,1	90,6 ± 0,6	90,0 ± 1,1	90,0 ± 1,1	
Аминный азот, N_{AN} , %	1,2 ± 0,1	1,3 ± 0,1	1,3 ± 0,1	1,4 ± 0,1	1,2 ± 0,1	1,4 ± 0,1	2,2 ± 0,1	2,6 ± 0,1	2,8 ± 0,1	
Зола, %	3,5 ± 0,1	3,9 ± 0,1	3,2 ± 0,1	3,5 ± 0,1	3,5 ± 0,1	3,7 ± 0,1	3,1 ± 0,1	3,6 ± 0,1	3,2 ± 0,1	
pH водного раствора	6,9 ± 0,1	6,7 ± 0,2	6,8 ± 0,1	6,6 ± 0,2	7,0 ± 0,1	6,6 ± 0,1	6,5 ± 0,1	6,4 ± 0,1	6,5 ± 0,1	
Степень гидролиза, %	8,3 ± 0,6	9,0 ± 0,6	8,9 ± 0,6	9,6 ± 0,6	8,2 ± 0,6	9,7 ± 0,5	15,2 ± 0,5	18,0 ± 0,4	19,4 ± 0,4	
Выход, %	22,0 ± 0,4	22,8 ± 0,5	20,4 ± 0,5	24,0 ± 0,6	18,8 ± 0,4	32,4 ± 0,8	31,2 ± 0,6	39,2 ± 0,8	43,2 ± 0,8	
M_w , кДа	–	–	–	–	–	–	42,9	30,4	22,8	
Органолептические показатели (раствор РБГ, С = 4%):										
Вкус	без постороннего вкуса			слабая горечь (послевкусие)	слабая горечь		горький вкус			
Запах	без постороннего запаха			без постороннего запаха			без постороннего запаха			

Выводы

В ходе проведенного исследования подобраны условия получения рыбных белковых гидролизатов из отходов переработки атлантической трески с учетом особенностей белоксодержащего сырья. Использован метод ферментативного гидролиза в широком диапазоне концентраций ферментных препаратов – Панкреатина, Коллагеназы, Протозима В, Алкалазы 2,4 L FG, Энзи-Микса У. Получены образцы рыбных белковых гидролизатов с высоким содержанием белка 85–90 %; выход варьировался в диапазоне от 22 до 55 % от массы высушенного сырья (содержание влаги в сырье не превышало 10 %). Анализ аминокислотного состава показал, что гидролизаты содержат все незаменимые аминокислоты и характеризуются высоким аминокислотным скором практически по всем незаменимым аминокислотам. Для получения белковых гидролизатов микробиологического назначения наиболее подходят ферментные препараты Панкреатин и Алкалаза 2,4 L FG: достигается высокая степень гидролиза (более 26 %) и высокий выход продукта.

Повышена эффективность традиционной технологии получения рыбных белковых гидролизатов пищевого назначения. Введена дополнительная стадия обработки белоксодержащего сырья раствором уксусной кислоты с целью улучшения органолептических показателей (цвет, запах, вкус) конечного продукта. Для дополнительной стадии требовалось минимальное количество

промывок, а обработанное сырье характеризовалось высоким содержанием белковых веществ.

С целью увеличения степени растворения белков проведена оптимизация стадии щелочного растворения белковых молекул. Обосновано создание высокого гидромодуля реакционной среды (массовое соотношение вода:сырье не менее 4:1) в качестве обязательного условия растворения рыбных белков используемого сырья.

При исследовании влияния концентрации ферментного препарата установлено, что с повышением концентрации с 1 до 8 г/кг сырья выход белкового гидролизата и степень гидролиза белка увеличиваются. Однако при этом повышается количество низкомолекулярных пептидов, что приводит к снижению органолептических характеристик продукта – появляется горьковатый привкус и усиливается рыбный запах. Исследования влияния типа ферментного препарата показали, что для получения пищевых белковых гидролизатов подходит только Протозим В. При этом концентрация фермента Протозима В, равная 1,5 г/кг сырья, и время гидролиза 2 ч являются оптимальными для получения рыбного белкового гидролизата пищевого назначения (со степенью гидролиза 8,9 %) с высокими органолептическими характеристиками. Белковые гидролизаты со степенью гидролиза более 10 % также могут быть использованы в составе пищевых продуктов, но только в капсулированном виде.

Критерии авторства

Ю. А. Кучина и Д. С. Колотова – концептуализация исследования, проведение экспериментальных исследований, обработка результатов. В. В. Толстиков и В. В. Василевич – методология. С. Р. Деркач – концептуализация исследования, подготовка и написание статьи. Все авторы ознакомились и согласились с опубликованной версией рукописи.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Благодарности

Авторы выражают благодарность коллективу кафедры химии и лаборатории химии и технологии морских биоресурсов (лаборатория образована при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, соглашение № 075-03-2024-024/1) Мурманского арктического университета за техническую поддержку.

Авторы выражают благодарность коллективу ООО «Эко Фиш» за поддержку и предоставление исходного сырья для проведения научных экспериментов.

Contribution

Yu.A. Kuchina and D.S. Kolotova developed the research concept, conducted the experimental research, and processed the results. V.V. Tolstikov and V.V. Vasilevich designed the research methodology. S.R. Derkach developed the research concept and drafted the manuscript. All the authors approved of the final version of the manuscript.

Conflict of interest

The authors declared no potential conflict of interest regarding the research, authorship, and/or publication of this article.

Acknowledgments

The authors are grateful to the staff of the Department of Chemistry and the Laboratory of Chemistry and Technology of Marine Bioresources, Murmansk Arctic University, for technical support (Russian Ministry of Science and Higher Education, Agreement No. 075-03-2024-024/1).

The authors express their gratitude to Eko Fish Ltd for support and provision of raw materials for scientific experiments.

Список литературы / References

1. Югай А. В. Актуальность использования рыбных белковых гидролизатов в технологии пищевых продуктов. *Health, Food & Biotechnology*. 2023. Т. 5. № 2. С. 51–66. [Yugay AV. Relevance of the use of fish protein hydrolysates in food technology. *Health, Food & Biotechnology*. 2023;5(2):51–66. (In Russ.)] <https://doi.org/10.36107/hfb.2023.i2.s173>
2. Lu X, Qian S, Wu X, Lan T, Zhang H, *et al*. Research progress of protein complex systems and their application in food: A review. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2024;265(Part 2):130987. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2024.130987>
3. Ramakrishnan SR, Jeong C-R, Park J-W, Cho S-S, Kim S-J. A review on the processing of functional proteins or peptides derived from fish by-products and their industrial applications. *Heliyon*. 2023;9(3):e14188. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e14188>
4. Honrado A, Miguel M, Ardila P, Beltrán JA, Calanche JB. From waste to value: Fish protein hydrolysates as a technological and functional ingredient in human nutrition. *Foods*. 2024;13(19):3120. <https://doi.org/10.3390/foods13193120>
5. Соколов А. В. Современное состояние и тенденции развития рыбохозяйственного комплекса России. Технологии пищевой и перерабатывающей промышленности АПК – продукты здорового питания. 2019. № 4. С. 36–48. [Sokolov AV. Current state and development trends of the Russian fisheries sector. *Technologies for the food and processing industry of aic – Healthy food*. 2019;(4):36–48. (In Russ.)] <https://doi.org/10.24411/2311-6447-2019-10021>
6. Zhao H, Wang M, Peng X, Zhong L, Liu X, *et al*. Fish consumption in multiple health outcomes: An umbrella review of meta-analyses of observational and clinical studies. *Annals of Translational Medicine*. 2023;11(3):152. <https://dx.doi.org/10.21037/atm-22-6515>
7. Zamora-Sillero J, Gharsallaoui A, Prentice C. Peptides from fish by-product protein hydrolysates and its functional properties: An overview. *Marine Biotechnology*. 2018;20(2):118–130. <https://doi.org/10.1007/s10126-018-9799-3>
8. Rafieezadeh D, Esfandyari G. Marine bioactive peptides with anticancer potential, a narrative review. *International Journal of Biochemistry and Molecular Biology*. 2024;15(4):118–126. <https://doi.org/10.62347/TUVQ7468>
9. Ishak NH, Sarbon NM. A review of protein hydrolysates and bioactive peptides deriving from wastes generated by fish processing. *Food and Bioprocess Technology*. 2018;11(11):2–16. <https://doi.org/10.1007/s11947-017-1940-1>
10. Idowu AT, Igiehon OO, Idowu S, Olatunde OO, Benjakul S. Bioactivity potentials and general applications of fish protein hydrolysates. *International Journal of Peptide Research and Therapeutics*. 2021;27:109–118. <https://doi.org/10.1007/s10989-020-10071-1>
11. Nemati M, Shahosseini SR, Ariaii P. Review of fish protein hydrolysates: Production methods, antioxidant and antimicrobial activity and nanoencapsulation. *Food Science and Biotechnology*. 2024;33:1789–1803. <https://doi.org/10.1007/s10068-024-01554-8>

12. Yu Y, Fan F, Wu D, Yu C, Wang Z, et al. Antioxidant and ACE inhibitory activity of enzymatic hydrolysates from *Ruditapes philippinarum*. *Molecules*. 2018;23(5):1189. <http://dx.doi.org/10.3390/molecules23051189>
13. Honrado A, Rubio S, Beltrán JA, Calanche J. Fish by-product valorization as source of bioactive compounds for food enrichment: Characterization, suitability and shelf life. *Foods*. 2022;11(22):3656. <https://doi.org/10.3390/foods11223656>
14. Petrova I, Tolstorebrov I, Zhivlyantseva J, Eikevik TM. Utilization of fish protein hydrolysates as peptones for microbiological culture medias. *Food Bioscience*. 2021;42(5):101063. <http://dx.doi.org/10.1016/j.fbio.2021.101063>
15. Broli G, Nygaard H, Sletta H, Sandnes K, Aasen IM. Farmed salmon rest raw materials as a source of peptones for industrial fermentation media. *Process Biochemistry*. 2021;102:157–164. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2020.12.004>
16. Horn SJ, Aspino SI, Eijsink VGH. Growth of *Lactobacillus plantarum* in media containing hydrolysates of fish viscera. *Journal of Applied Microbiology*. 2005;99(5):1082–1089. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2672.2005.02702.x>
17. Hyun J, Rho Y, Nagahawatta DP, Lee G, Lee S, et al. Upcycling fish byproducts for skin health: An enzymatic approach to sustainable nutricosmetics. *Food Bioscience*. 2025;66(11):106205. <http://dx.doi.org/10.1016/j.fbio.2025.106205>
18. Антипова Л. В., Сторублевцев С. А., Болгова С. Б. Создание коллагеновых продуктов из рыбного сырья. Вестник Воронежского государственного университета инженерных технологий. 2015. Т. 1. № 63. С. 130–133. [Antipova LV, Storublevtsev SA, Bolgova SB. Creation of collagen products fish raw material. *Proceedings of the Voronezh state university of engineering technologies*. 2015;1(63):130–133. (In Russ.)] <https://elibrary.ru/TTUFGP>
19. Ribeiro TB, Maia MRG, Fonseca AJM, Marques B, Caleja C, et al. A comprehensive review of fish protein hydrolysates targeting pet food formulations. *Food Reviews International*. 2024;41(5):1321–1359. <https://doi.org/10.1080/87559129.2024.2430660>
20. Gao R, Yu Q, Shen Y, Chu Q, Chen G, et al. Production, bioactive properties, and potential applications of fish protein hydrolysates: Developments and challenges. *Trends in Food Science & Technology*. 2021;110:687–699. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.02.031>
21. Shahidi F, Varatharajan V, Peng H, Senadheera R. Utilization of marine by-products for the recovery of value-added products. *Journal of Food Bioactives*. 2019;6:10–61. <https://doi.org/10.31665/JFB.2019.6184>
22. Ozogul F, Cagalj M, Simat V, Ozogul Y, Tkaczewska J, et al. Recent developments in valorisation of bioactive ingredients in discard/seafood processing by-products. *Trends in Food Science & Technology*. 2021;116:559–582. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.08.007>
23. Kaushik N, Falch E, Slizyte R, Kumari A, Khushboo, et al. Valorization of fish processing by-products for protein hydrolysate recovery: Opportunities, challenges and regulatory issues. *Food Chemistry*. 2024;459:140244. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2024.140244>
24. Хелинг А., Гримм Т., Волков В. В., Мезенова Н. Ю. Исследования различных способов гидролитического процесса вторичного рыбного сырья консервного производства. Вестник Международной академии холода. 2016. № 1. С. 3–8. [Hoeling A, Grimm T, Volkov VV, Mezenova NYu. Hydrolysis process of fish cannery by-products. *Journal of International Academy of Refrigeration*. 2016;(1):3–8. (In Russ.)] <https://elibrary.ru/VVRJSX>
25. Мезенова О. Я., Волков В. В., Мерзель Т., Гримм Т., Кюн С., 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. № 4. С. 83–94. [Mezenova OYa, Volkov VV, Merzel T, Grimm T, Kyun S, et al. Hydrolysis methods for collagen-containing fish raw materials for obtaining peptides and their amino acid profile. *Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology*. 2018;8(4):83–94. (In Russ.)] <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2018-8-4-83-94>
26. Yuan Z, Ye X, Hou Z, Chen S. Sustainable utilization of proteins from fish processing by-products: Extraction, biological activities and applications. *Trends in Food Science & Technology*. 2023;143:104276. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2023.104276>
27. Лебедева С. Н., Болхонов Б. А., Жамсаранова С. Д., Баженова Б. А., Лескова С. Ю. Изучение некоторых функциональных характеристик ферментативных гидролизатов пищевых белков. Техника и технология пищевых производств. 2024. Т. 54. № 2. С. 412–422. [Lebedeva SN, Bolkhonov BA, Zhamsaranova SD, Bazhenova BA, Leskova SYu. Functional profile of enzymatic hydrolysates in food proteins. *Food Processing: Techniques and Technology*. 2024;54(2):412–422. (In Russ.)] <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2024-2-2515>
28. Mazorra-Manzano MA, Ramírez-Suárez JC. Proteolytic enzymes for production of functional protein hydrolysates and bioactive peptides. In: Yada RY, Dee DR, editors. *Improving and Tailoring Enzymes for Food Quality and Functionality*, 2th ed. UK: Woodhead Publishing; 2024. pp. 325–354. <https://doi.org/10.1016/B978-0-443-15437-9.00013-6>
29. Abdullah FI, Hamid NH, Abd Karim MM, Ismail MF, Sin NLWW, et al. Fish protein hydrolysate for fish health. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*. 2024;60:103292. <https://doi.org/10.1016/j.cbab.2024.103292>
30. Derkach SR, Kolotova DS, Kuchina YuA, Shumskaya NV. Characterization of fish gelatin obtained from Atlantic cod skin using enzymatic treatment. *Polymers*. 2022;14(4):751. <https://doi.org/10.3390/polym14040751>
31. Alp-Erbay E, Yeşilsu AF. Fish protein and its derivatives: Functionality, biotechnology and health effects. *Aquatic Food Studies*. 2021;1(1):AFS13. <https://doi.org/10.4194/AFS13>

32. Бредихина О. В., Зарубин Н. Ю. Разработка комплексной технологии переработки отходов рыбоперерабатывающих предприятий на коллагенсодержащие гидролизаты пищевого назначения. Труды ВНИРО. Технология переработки водных биоресурсов. 2019. Т. 176. С. 109–121. [Bredikhina OV, Zarubin NYu. Development of complex technology of processing of organic waste of fish processing enterprises on collagencontaining hydrolysates for food purposes. Trudy VNIRO. Aquatic bioresources processing technologies. 2019;176:109–121. (In Russ.)] <https://elibrary.ru/QADCUA>
33. Association of Official Analytical Chemist AOAC. Official Methods of Analysis, 20th ed. NY: AOAC International; 2016.
34. Dinakarkumar Yu, Krishnamoorthy S, Margavelu G, Ramakrishnan G, Chandran M. Production and characterization of fish protein hydrolysate: Effective utilization of trawl by-catch. Food Chemistry Advances. 2022;1:100138. <https://doi.org/10.1016/j.focha.2022.100138>
35. Coles GD, Wratten SD, Porter JR. Food and nutritional security require adequate protein as well as energy, delivered from whole-year crop production. Peer J. 2016;4(6245):e2100. <http://dx.doi.org/10.7717/peerj.2100>
36. Verdú S, Fuentes C, Fuentes A, Pérez AJ, Barat JM, *et al.* Predicting fish by-product proteolysis status by RGB laser-scattering imaging combined with machine learning procedures. Journal of Food Engineering. 2023;358:111660. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2023.111660>
37. Moreira TFM, Pessoa LGA, Seixas FAV, Ineu RP, Gonçalves OH, *et al.* Chemometric evaluation of enzymatic hydrolysis in the production of fish protein hydrolysates with acetylcholinesterase inhibitory activity. Food Chemistry. 2022; 367:130728. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.130728>
38. Tadesse SA, Emire SA, Barea P, Illera AE, Melgosa R, *et al.* Valorisation of low-valued ray-finned fish (*Labeobarbus nedgia*) by enzymatic hydrolysis to obtain fish-discarded protein hydrolysates as functional foods. Food and Bioproducts Processing. 2023;141:167–184. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2023.08.003>
39. Khan MU, Hamid K, Tolstorebrov I, Eikevik TM. A comprehensive investigation of the use of freeze concentration approaches for the concentration of fish protein hydrolysates. Food Chemistry. 2024;452:139559. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2024.139559>
40. Chorhirankul N, Janssen AEM, Boom RM. UF fractionation of fish protein hydrolysate. Separation and Purification Technology. 2024;330(Part A):125232. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2023.125232>

Дополнительная информация об авторах / Additional information about the authors

Кучина Юлия Анатольевна / Yulia A. Kuchina ORCID 0000-0003-3419-1442; eLIBRARY SPIN 3121-3735

Колотова Дарья Сергеевна / Daria S. Kolotova ORCID 0000-0002-1700-2323; eLIBRARY SPIN 3803-6815

Толстикова Владислав Васильевич / Vladislav V. Tolstikov ORCID 0009-0005-0074-0433

Василевич Василий Вадимович / Vasily V. Vasilevich ORCID 0000-0002-5664-5524

Деркач Светлана Ростиславовна / Svetlana R. Derkach ORCID 0000-0002-5871-9320; eLIBRARY SPIN 2263-7685