

УДК 796/799

ПРОТЕИНЫ ИЗ ВТОРИЧНОГО РЫБНОГО СЫРЬЯ
КАК ИННОВАЦИОННЫЕ КОМПОНЕНТЫ СПОРТИВНОГО ПИТАНИЯ

А. Хёлинг, Т. Гримм, В. В. Волков, Н. Ю. Мезенова

PROTEINS FROM FISH BY-PRODUCTS AS INNOVATIVE COMPONENTS
OF SPORT NUTRITION

A. Nyoling, T. Grimm, V. V. Volkov, N. Yu. Mezenova

Активные пептиды, представляющие собой осколки молекул низкой молекулярной массы до 10 кДа, представляют большой практический интерес в использовании их в спортивном питании. Для этой цели исследовано вторичное рыбное сырье - позвоночные кости, головы и чешуя сардины и сардинеллы – являющееся потенциальным источником активных пептидов. Протеины получали из белков вторичного сырья, содержание которых в зависимости от вида составляло 41,7-60,5%. Сырье подвергалось сравнительной биотрансформации под действием четырех типов гидролиза: термический при температуре 130°C, ферментативный с использованием фермента Alcalase 2,5L, ферментативно-термический (комбинированный) и ферментативно-термический с предварительным промыванием сырья водой. В результате гидролиза образовывались две фракции – водорастворимая и осадочная, которые сублимационно высушивались. Полученные 17 образцов исследовали органолептическими и химическими методами на содержание протеинов, липидов и минеральных веществ. В каждой фракции установлен фракционный состав основных веществ, молекулярная масса и количественное содержание пептидов. Во всех водорастворимых фракциях значительная доля сухих веществ приходится на протеины (до 100%). Ферментативный и ферментативно-термический способы гидролиза рекомендованы в качестве рационального режима для получения активных пептидов, поскольку максимальный выход протеиновых фракций с молекулярной массой менее 10 кДа составляло до 98,1 и 91,7% соответственно. Водорастворимые фракции гидролизатов из рыбной чешуи были использованы в технологии продуктов питания спортивного назначения. Гидролизаты из чешуи вошли в состав совместно с апикомпозицией (мед, пыльца, перга, прополис) поликомпонентных биологически активных добавок, предназначенных для спортсменов скоростно-силовых видов спорта.

сардина, сардинелла, головы, кости, чешуя, гидролиз, активные пептиды, спортивное питание

The interest for active peptides of natural origin is constantly growing in sports nutrition. Fish by-products are a potential source of such peptides, which were subjected to biotransformation by specific enzymes and thermal degradation in order to obtain the fragments of molecules less than 10 kDa. These peptides are characterized by high digestibility, showing ergogenic properties, antioxidant and immunomodulatory effects.

Four types of hydrolysis were studied in order to obtain low molecular weight active peptides. These are thermal, enzymatic, enzymatic-thermal and enzymatic-thermal with a preliminary washing of raw material by water. Vertebral bones, heads and scales of sardines and sardinellas were used as raw materials. Chemical and fractional compositions of protein and sedimentary parts of hydrolyzed system were identified. The molecular weight of the peptides and their number were defined. Enzymatic and enzymatic-thermal types of hydrolysis are recommended as the most rational in order to obtain maximum yield of protein fractions with molecular weights less than 10 kDa (98.1% and 91.7% respectively). Hydrolysates of fish scales protein are the most preferred by the results of chemical analysis and organoleptic characteristics. They are used with bee products (honey, bee pollen, bee bread, propolis) for combination of multicomponent dietary supplements for sportsmen of speed-power types of sports.

sardina, sardinella, heads, bones, scales, hydrolysis, active peptides, sport nutrition

ВВЕДЕНИЕ

Известно, что при разделке рыбы на рыбоперерабатывающих предприятиях остается до 50% массы на так называемых вторичных рыбных ресурсах (головы, чешуя, позвоночные хребты), которые отличаются высоким биопотенциалом, но практически не используются на пищевые цели [1-3]. Представляют интерес исследования процесса изоляции биологически активных веществ (БАВ) из данного биологического сырья, прежде всего, пептидов, которые могут проявлять активные свойства, востребованные в спортивном питании. При этом образующиеся из сырья липидная и минеральная фракции могут быть направлены на получение биотоплива или удобрений. Изолировать отдельные БАВ из вторичного сырья возможно гидролизом его нативных тканей, который позволяет получить отдельные органические фракции с предварительным расщеплением белковых полипептидных цепей до низкомолекулярных протеинов [4].

Помимо традиционного применения вторичного рыбного сырья на кормовую муку, корм пушным зверям или утилизацию, сегодня оно находит альтернативное применение в пищевой промышленности. Уже доказана уникальная биологическая активность пептидов морского происхождения с молекулярной массой менее 10 кДа - анаболическая, антиоксидантная, антисептическая, иммуномодулирующая, гипотензивная, регенеративная, эргогенная и др. [5-7]. Гидролизованые белки служат также своеобразным резервуаром для конструирования нового поколения биоактивных белков, что особенно актуально для спортсменов, нуждающихся в быстрой регенерации тканей [8].

Целью исследований являлась сравнительная оценка различных способов гидролиза вторичного рыбного сырья, остающегося при производстве консервов, позволяющих получать максимальный выход низкомолекулярных пептидов с молекулярной массой менее 10 кДа, востребованных в спортивном питании.

Исследования проводили в лаборатории биотехнологического предприятия «ANIMOX» (г. Берлин, Германия) на специализированном оборудовании.

Вторичное рыбное сырье, остающееся после разделки на филе сардины и сардинеллы (чешуя, хребтовые кости, головы), поставляли с рыбоконсервного комплекса ОАО «РосКон» (г. Пионерский, Калининградская область). За сутки

данных отходов накапливается около 3 т, они собираются в различные емкости, хранятся при температуре около 0°С и затем забираются различными поставщиками, практически не принося прибыли предприятию.

ОСНОВНАЯ ЧАСТЬ

Химический состав исходного материала представлен в табл. 1.

Таблица 1. Общий химический состав вторичного рыбного сырья

Table 1. General chemical composition of fish by-products

Вид сырья	Содержание							
	сухих веществ, СВ		протеина		минеральных веществ		жира	
	г/100 г	в пересчете на СВ	г/100 г	в пересчете на СВ	г/100 г	в пересчете на СВ	г/100 г	в пересчете на СВ
Головы сардины	34,6	100	16,0	46,2	8,62	25,5	9,80	28,3
Головы сардинеллы	37,4	100	15,6	41,7	6,96	18,6	14,8	39,7
Чешуя сардины	27,1	100	15,3	56,7	3,27	12,1	8,46	31,3
Чешуя сардинеллы	33,3	100	20,2	60,5	3,62	10,9	9,53	28,6
Кости сардины	41,0	100	17,2	42,0	3,80	9,28	20,0	48,7

Гидролиз вторичного сырья осуществляли тремя способами - термическим, ферментативным и ферментативно-термическим (комбинированным).

Термический гидролиз измельченного сырья осуществляли при температуре 130°С под давлением в течение 60 мин. При этом материал предварительно гомогенизировали с водой, вносимой при гидромодуле 1:1, после чего смесь разделяли на центрифуге при скорости вращения 3500 об/ч в течение 10 мин, далее систему охлаждали и разделяли на три фракции (жировую – сверху, протеиновую – среднюю водорастворимую и минерало-белково-жировую (соапсток) – нижнюю).

Ферментативный гидролиз проводили с применением протеолитического фермента микробиологического происхождения Alcalase 2,5L (Дания), при этом предварительно также готовили гомогенизированную смесь измельченного сырья с горячей водой при гидромодуле 1:1, выдерживали смесь при температуре 50°С в течение 6 ч при постоянном перемешивании. Последующую обработку проводили идентично описанному выше способу.

Ферментативно-термический (комбинированный) способ осуществляли комбинированием первоначально проводимого ферментативного гидролиза с последующим термическим по описанным выше параметрам.

Для голов и костей сардины с целью удаления низкомолекулярных легколетучих водорастворимых компонентов, обуславливающих рыбный запах, дополнительно осуществляли предварительную мойку. Всего было исследовано 17 об-

разцов различных фракций продуктов гидролиза, прежде всего, протеинов. Результаты количественного анализа протеиновых фракций различных способов гидролиза наглядно иллюстрированы на рис. 1-3.

Из рис. 1 и 2 следует, что ферментативно-термический гидролиза обеспечивает максимальный выход протеинов из всех видов исследуемого сырья (80,6 – 91,3% массы их исходного содержания в сырье). При этом предварительное промывание способствует снижению выхода протеинов, что объясняется их водной экстракцией и удалением водорастворимой фракции.

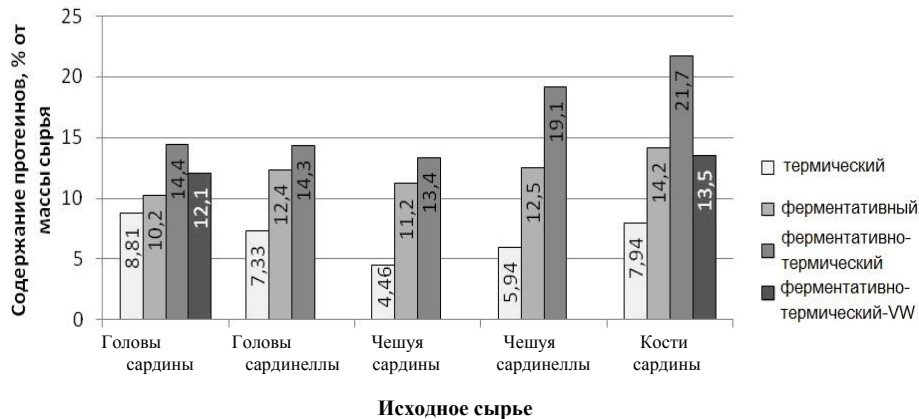


Рис. 1. Сравнительное содержание протеинов в гидролизатах из вторичного рыбного сырья различных способов получения

Fig. 1. Comparative content of proteins in fish by-products hydrolysates in a variety of production methods

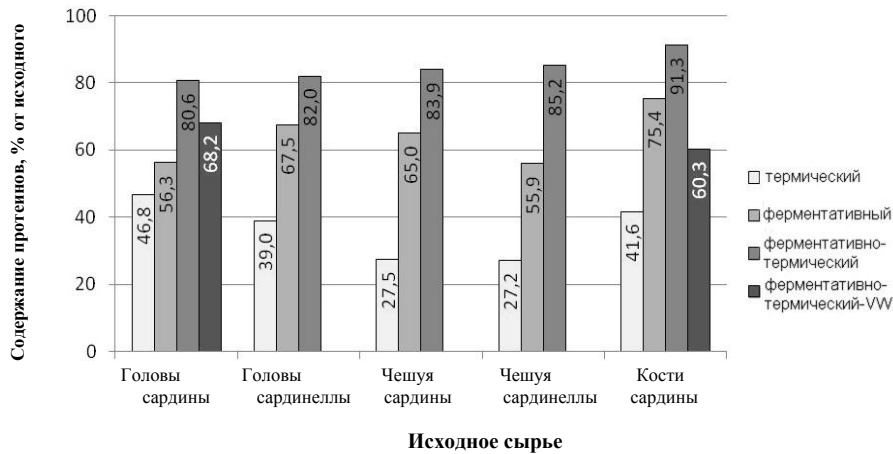


Рис. 2. Сравнительная оценка выхода протеинов относительно их исходного содержания в сырье при различных способах гидролиза вторичного рыбного сырья

Fig. 2. Comparative evaluation of proteins output compared with their original content in raw materials by various types of fish by-products hydrolysis

В пептидной фракции определяли молекулярную массу основных пептидов. На рис. 3 приведены данные количественного содержания протеиновых гидролизатов с мелкими полипептидами (размером частиц < 10 кДа), полученных различными способами. Видно, что независимо от сырья ферментативный и фер-

ментативно-термический способы гидролиза обеспечивают максимальные выходы мелких фракций белка, отличающихся наибольшей активностью [5-7].

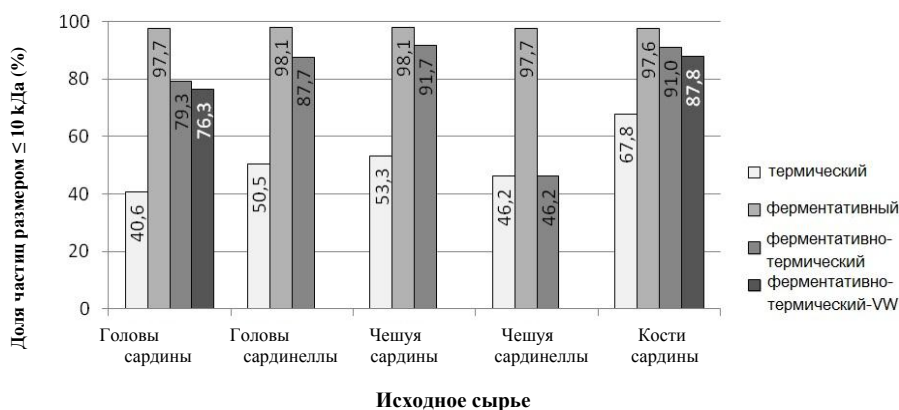


Рис. 3. Содержание протеинов с молекулярной массой ≤ 10 кДа в гидролизатах вторичного рыбного сырья различных способов гидролиза

Fig. 3. The content of proteins with a molecular weight less than 10 kDa in fish by-products hydrolysates of various types of hydrolysis

В табл. 2 приведены обобщенные данные физико-химического анализа гидролизованного вторичного рыбного сырья с оценкой выхода низкомолекулярных фракций, представляющих наибольший интерес для использования в спортивном питании [8]. Видно, что при использовании ферментативно-термического способа гидролиза наблюдается наибольший выход протеинов во всех видах сырья и наименьший выход осадочной части. Однако наибольшее содержание низкомолекулярной фракции протеинов с молекулярной массой менее 10 кДа идентифицировано в пробах, полученных путем ферментативного гидролиза [9].

Таблица 2. Оценка фракционного состава гидролизатов с молекулярной массой ≤ 10 кДа из вторичного рыбного сырья различных способов гидролиза

Table 2. Evaluation of fractional composition of hydrolysates with a molecular weight less than 10 kDa from different fish by-products hydrolysates

Способы гидролиза	Протеины, % массы белковой фракции сырья	Протеины, % массы всего сырья	Жир, % массы жировой фракции сырья	Жир, % массы всего сырья	Соап-сток, % массы осадочной фракции сырья	Соап-сток, % массы всего сырья	Фракция протеинов с ММ ≤ 10 кДа, % массы протеиновой фракции
1	2	3	4	5	6	7	8
Головы сардины							
T1	46,8	8,81	52,8	5,17	90,4	21,2	40,6
F2	56,3	10,2	90,3	8,85	88,7	16,0	97,7
F-T3	80,6	14,4	77,2	7,56	88,4	13,1	79,3
F-T, П4	68,2	12,1	75,9	7,44	88,0	13,6	76,3

Окончание табл. 2

1	2	3	4	5	6	7	8
Головы сардинеллы							
T1	39,0	7,33	71,5	10,6	84,0	19,9	50,5
Ф2	67,5	12,4	87,2	12,9	79,0	12,5	98,1
Ф-Т3	82,0	14,3	72,4	10,7	81,9	12,8	87,7
Чешуя сардины							
T1	27,5	4,46	63,5	5,37	97,7	17,7	53,3
Ф2	65,0	11,2	83,7	7,08	79,7	9,13	98,1
Ф-Т3	83,9	13,4	74,9	6,34	96,4	7,71	91,7
Чешуя сардинеллы							
T1	27,2	5,94	39,9	3,81	92,2	24,2	46,2
Ф2	55,9	12,5	72,8	6,94	92,4	14,4	97,7
Ф-Т3	85,2	19,1	79,8	7,61	86,0	6,99	46,2
Хребтовые кости сардины							
T1	41,6	7,94	71,3	14,2	85,2	19,3	67,8
Ф2	75,4	14,2	92,9	18,5	80,5	8,52	97,6
Ф-Т3	91,3	21,7	73,3	14,6	74,9	5,10	91,0
Ф-Т, П4	60,3	13,5	61,2	12,2	75,6	11,6	87,8

* T^1 – термический гидролиз, Φ^2 – ферментативный гидролиз, $\Phi-T^3$ – ферментативно-термический гидролиз, $\Phi-T, П^4$ – ферментативно-термический гидролиз с промыванием сырья.

Все образцы гидролизованной продукции, высушенные сублимационно, представляли собой мелкодисперсный сыпучий материал песочного цвета с различными оттенками (рис. 4). Органолептическая оценка запахов в большинстве образцов не выявила порочащих запахов, за исключением гидролизатов из голов (отмечено наличие запаха окислившегося жира). Наилучшие органолептические характеристики были установлены в пептидных гидролизатах чешуи сардины, что явилось решающим аргументом при выборе их в дальнейших исследованиях.



Рис. 4. Гидролизаты белков чешуи сардины и сардинеллы
Fig. 4. Scale protein hydrolysates of sardines and sardinella

В табл. 3 обобщены результаты итоговой оценки сублимационно высушенных протеиновых фракций чешуи сардины и сардинеллы.

Таблица 3. Общий химический состав протеиновых гидролизатов и осадочной части гидролизованной системы из вторичного рыбного сырья
 Table 3. General chemical composition of protein hydrolysates and sediment from fish by-products

№ п/п	Содержание					Сырье / способ обработки
	сухие вещества (СВ), % массы фракции	азот (N/СВ), % сухих веществ	протеины, (N/СВ*6, 25), % сухих веществ	жир, (Ж/СВ), % сухих веществ	минеральные вещества, (МВ/СВ), % сухих веществ	
Протеиновые гидролизаты (сублимационно высушенная фракция)						
1	95,0	15,7	97,9	1,74	0,14	Чешуя сардинеллы, Ф-Т
2	94,7	17,0	106,0	1,15	2,56	Чешуя сардины, Т
3	96,9	14,4	90,3	7,7	1,49	Чешуя сардинеллы, Ф-Т
4	95,2	17,5	109,4	0,85	3,66	Чешуя сардинеллы, Т
5	96,9	14,6	91,3	6,20	2,93	Чешуя сардинеллы, Ф
6	96,1	15,1	94,5	4,07	4,80	Чешуя сардины, Ф
Осадочная часть гидролизованной системы (соапсток)						
1	98,3	5,65	35,3	33,0	20,3	Чешуя сардины, Ф-Т
2	97,5	10,2	63,9	13,0	28,6	Чешуя сардины, Т
3	98,5	6,98	43,6	13,4	31,6	Чешуя сардинеллы, Ф-Т
4	96,3	10,6	66,0	19,3	11,4	Чешуя сардинеллы, Т
5	97,7	8,87	55,5	11,6	31,3	Чешуя сардинеллы, Ф
6	97,8	11,2	70,0	13,9	30,6	Чешуя сардины, Ф

ВЫВОДЫ

Наиболее эффективными способами изоляции протеинов из вторичного рыбного сырья и перевода их в активное низкомолекулярное состояние являются ферментативный и ферментативно-термический типы гидролиза. Наиболее концентрированными по протеинам с минимальным содержанием жира и рациональным количеством минеральных веществ являются гидролизаты рыбной чешуи. Во всех высушенных сублимационно водорастворимых фракциях значительная доля массы сухих веществ приходится на протеины (до 100 %).

Низкомолекулярная фракция чешуи исследованных рыб, полученная ферментативным и ферментативно-термическим способами, отличающаяся специфическим составом аминокислот [10], является привлекательной матрицей для проектирования поликомпонентных БАД для спортивного питания. При этом высушенные гидролизаты практически не имеют рыбного запаха, обладают высокой сыпучестью и стойки в хранении (до двух лет при комнатной температуре). Достоинством протеиновых гидролизатов из чешуи является значительное преобладание низкомолекулярной фракции (доля частиц с ММ менее 10 кДа достигает 98%). На базе полученных пептидов при добавлении апикомпозиций (пчелиная перга, воск, мед) с учетом принципов пищевой комбинаторики спроектированы

составы белково-углеводных БАДов для спортивного питания (гейнеров). Технология их изготовления предусматривает растворение всех компонентов в растворе желатина при нагревании системы до 30°C [11] с последующей сушкой желированных форм. Готовая продукция, богатая природными функциональными ингредиентами, отличается высокой усвояемостью и энергоемкостью. По критериальным показателям биологической ценности новые БАДы рекомендованы спортсменам скоростно-силовых видов спорта [12, 13]. В настоящее время осуществляются исследования по установлению их сроков годности и безопасности.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ЛИТЕРАТУРНЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Кучина, Ю. А. Ферментативные гидролизаты из гидробионтов, полученные электро-химическим методом, как основа микробиологических питательных сред / Ю. А. Кучина [и др.] // Рыбное хозяйство. – 2011. – № 3. – С. 114-116.
2. Maximising the value of marine by-products: edited by Fereidoon Shahidi. – Woodhead Publishing Limited. – Cambridge England, 2010. – 213 p.
3. Mezenova, O.Ya. Development of new functional food for old people from fish-by-products / O.Ya Mezenova, M.V. Matkovskaya // Australian Journal of Science Research. - 2014.- № 1. - P.421-426.
4. Хёлинг, А. Протеины из вторичного сырья – инновационные компоненты в экологичном промышленном производстве / А. Хёлинг, В. В. Волков // Известия КГТУ. – 2015. – № 38. – С. 83-92
5. Kim, S.K. Marine proteins and peptides: biological activities and applications / Se-Kwon Kim. – Pukyong National University, South Korea. - 2013. – 785 p.
6. Cheung, I.W.Y. Bioactive peptides derived from marine fish / I.W.Y. Cheung // Food chemie. - № 122. - 2010. - p. 1003-1012.
7. Bioactive Marine Peptides: edited by S.K. Kim / Academic Publishers Tokio University of Marine Science and Technology, Tokyo, Japan, 2012.- 132 p
8. Волков, Н. И. Эргогенные эффекты спортивного питания / Н. И. Волков, В. И. Олейников. – Москва: Изд-во «Советский спорт», 2012. - 99 с.
9. Мезенова, Н. Ю. Активные пептиды рыбной чешуи в гейнерах для спортивного питания / Н. Ю. Мезенова [и др.] // Вестник Международной академии холода. – 2014. – № 2. – С. 48-53.
10. Мезенова, О. Я. Проектирование поликомпонентных пищевых продуктов: учеб. пособие / О. Я. Мезенова. – Санкт-Петербург: Проспект науки, 2015. – 224 с.
11. Мезенова, Н. Ю. Гидролизаты рыбной чешуи в составе базового специализированного питания спортсменов / Н. Ю. Мезенова, Л. С. Байдалинова, О. Я. Мезенова // Известия вузов. Пищевая технология / ФГБОУ ВПО «КубГУ». – 2014. – №4. – С. 62-65.
12. Мезенова, Н. Ю. Биотехнология гейнеров для спортивного питания на основе активных пептидов рыбной чешуи // Н. Ю. Мезенова [и др.] // Вестник биотехнологии и физико-химической биологии им. Ю. А. Овчинникова / АНО «Информационно-аналитический центр медико-социальных проблем». – 2014. – №1. – С. 20-24

REFERENCES

1. Kuchina Yu.A., Konovalova I.N., Shironina A.Yu., Molchanovskaya T.I. Fermentativnye gidrolizaty iz gidrobiontov, poluchennye elektro-khimicheskim metodom, kak osnova mikrobiologicheskikh pitatel'nykh sred [Fermentative hydrolysates from aquatic organisms obtained by electro-chemical method as a basis for microbiological nutrient media]. *Rybnoe khozyaystvo* [Fisheries]. 2011, no. 3, pp. 114-116.
2. Maximising the value of marine by-products: edited by Fereidoon Shahidi. Woodhead Publishing Limited. Cambridge England, 2010, 213 p.
3. Mezenova O.Ya., Matkovskaya M.V. Development of new functional food for old people from fish-by-products. *Australian Journal of Science Research*. 2014, no. 1, pp. 421-426.
4. Kheling A., Volkov V. V. Proteiny iz vtorichnogo syr'ya – innovatsionnye komponenty v ekologichnom promyshlennom proizvodstve [Proteins from by-products – innovative components in sustainable industrial production]. *Izvestiya Kaliningradskogo gosudarstvennogo tekhnicheskogo universiteta*. 2015, no. 38, pp. 83-92
5. Kim S.K. Marine proteins and peptides : biological activities and applications. Se-Kwon Kim. Pukyong National University, South Korea. 2013, 785 p.
6. Cheung I.W.Y. Bioactive peptides derived from marine fish. *Food chemie*. 2010, no. 122, pp. 1003-1012.
7. Bioactive Marine Peptides: edited by S.K. Kim. Academic Publishers Tokio University of Marine Science und Technology, Tokyo, Japan. 2012, 132 p
8. Volkov N.I., Oleynikov V.I. *Ergogennye efekty sportivnogo pitaniya* [Ergogenic effect of sport nutrition]. Moscow, izdatel'stvo «Sovetskiy sport», 2012, 99 p.
9. Mezenova N.Yu., Baydalinova L.S., Dr. Moersel Joerg-Thomas, Dr. Hoeling A., Mezenova O.Ya. Aktivnye peptidy rybnoy cheshui v geynerakh dlya sportivnogo pitaniya [Active peptides of fish scales in gainers for sport nutrition]. Saint-Petersburg, *Vestnik Mezhdunarodnoy akademii kholoda*, 2014, no. 2, pp. 48-53.
10. Mezenova O.Ya. *Proektirovanie polikomponentnykh pishchevykh produktov: uchebnoe posobie* [Multicomponent food products design: educational guidance]. Saint-Petersburg, Prospekt nauki, 2015, 224 p.
11. Mezenova N.Yu., Baydalinova L.S., Mezenova O.Ya. Gidrolizaty rybnoy cheshui v sostave bazovogo spetsializirovannogo pitaniya sportsmenov [Fish scale hydrolysates as part of basic specialized sport nutrition]. Krasnodar, *Izvestiya vuzov, Pishhevaya tekhnologiya*. 2014, no. 4, pp. 62-65.
12. Mezenova N.Yu., Mezenova O.Ya., Baydalinova L.S., Dr. Moersel Joerg-Thomas, Dr. Hoeling A. Biotekhnologiya geynerov dlya sportivnogo pitaniya na osnove aktivnykh peptidov rybnoy cheshui [Biotechnology of gainers for sport nutrition based on active fish scale peptides]. Moscow, ANO «Informatsionno-analiticheskiy tsentr mediko-sotsial'nykh problem», *Vestnik biotekhnologii i fiziko-khimicheskoy biologii im. Yu.A. Ovchinnikova*. 2014, no. 1, pp. 20-24.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

Аксель Хёлинг – генеральный директор биотехнологической компании ANiMOX GmbH, г. Берлин (Германия); доктор экономических наук;
E-mail: a.hoehling@animox.de

Axel Hoehling – General director of the technology company ANiMOX GmbH, Berlin (Germany); Doctor of Economic Sciences; E-mail: a.hoehling@animox.de

Томас Гримм – инженер-биотехнолог биотехнологической компании ANiMOX GmbH; E-mail: tgrimm@animox.de

Thomas Grimm – Biotechnology ingeneer of the technology company ANiMOX GmbH; E-mail: tgrimm@animox.de

Волков Владимир Владимирович – Калининградский государственный технический университет; аспирант, ведущий специалист управления инновационной деятельности; E-mail: vladimir.volkov@klgtu.ru

Volkov Vladimir Vladimirovich – Kaliningrad State Technical University; postgraduate student, leading specialist of the Department for innovation activities; E-mail: vladimir.volkov@klgtu.ru

Мезенова Наталья Юрьевна – Калининградский государственный технический университет; аспирантка, ведущий инженер кафедры пищевой биотехнологии; E-mail: lost_13@inbox.ru

Mezenova Natalia Yurevna – Kaliningrad State Technical University; postgraduate student, leading specialist of the Department of food biotechnology; E-mail: lost_13@inbox.ru