

АНОТАЦІЯ

Лебський С. О. Обґрунтування та розробка технології біологічно активних добавок білкової та ліпідної природи із чорноморської трав'яної креветки (*Palaemon adspersus* Rathke, 1837). – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора філософії зі спеціальності 181 «Харчові технології». Національний університет біоресурсів і природокористування України. Київ, 2023.

У дисертації на підставі аналізу сучасних технологій переробки ракоподібних теоретично обґрунтовано й експериментально підтверджено доцільність глибокої переробки одного з поширених видів ракоподібних Чорного моря чорноморської трав'яної креветки (*Palaemon adspersus* Rathke, 1837) для вилучення біологічно активних ліпідів і ферментних препаратів з колагенолітичною дією. В Україні є власні ресурси цього виду ракоподібних, однак вилов не реалізується у достатньому обсязі через відсутність технологій її глибокої переробки. Цей вид на ринку України представлений у мороженому та варено-мороженому вигляді. Водночас багато досліджень зарубіжних вчених показали, що неїстівні частини тіла ракоподібних – гепатопанкреас – містять біологічно активні ліпіди з великою кількістю поліненасичених жирних кислот родини ω -3, каротиноїди (астаксантин) і комплекс ферментів колагенолітичної дії. На підставі цих досліджень розроблено технології вилучення біологічно активних речовин ліпідної та білкової природи. Ці питання досліджували такі вчені: Л. В. Баль-Прилипка, Т. К. Лебська, О. В. Сидоренко, Р. Дончевська, S. Ahmadkelayeh, A. Albalat, D. Xie, X. Wang та інші. Однак, розроблені технології передбачають вилучення однієї з біологічно активних речовин – або хітину, або концентрату білку, або ферментних препаратів, або ліпідів з каротиноїдами. Тому обґрунтування та розроблення технології глибокої переробки цього виду креветок з вилученням комплексу біологічно активних речовин є на сьогодні актуальним завданням.

Метою дослідження є розробка науково обґрунтованої технології біологічно активних ліпідів і ферментних препаратів із чорноморської трав'яної креветки.

Сучасний стан ринку рибної продукції в Україні характеризується збільшенням обсягу вилову риби й інших гідробіонтів і підвищенням рівня споживання рибопродукції. Встановлено, що основна сировина постачається в Україну як імпорт. Нестача власного виробництва риби і рибних продуктів забезпечується через імпорт. Визначено перспективність розвитку в Україні аквакультури, зокрема ракоподібних тварин, та підвищення рівня забезпечення населення продукцією вітчизняного виробництва.

Доведено, що сучасні технології переробки ракоподібних пов'язані з використанням усіх частин тіла: панцира, м'яса, гепатопанкреаса, ліпідної компоненти і ферментів

колагенолітичної дії. Проте недостатньо досліджено питання комплексної переробки сировинної бази чорноморських трав'яних креветок в Україні.

Теоретично обґрунтовано комплексну технологію переробки ракоподібних на прикладі чорноморської трав'яної креветки для вилучення ліпідно-каротиноїдного комплексу та ферментних препаратів колагенолітичної дії. Серед ліпідів ракоподібних визначено велику кількість фосфоліпідів, жирних кислот родини ω -3, каротиноїдів. Гепатопанкреас ракоподібних містить ферменти колагенолітичної дії, які досить широко використовують у медицині, харчовій та кормовій промисловості. Тому доведено доцільність комплексної переробки в Україні промислового ракоподібного – чорноморської трав'яної креветки – для вилучення біологічно активних речовин.

Визначено, що об'єктом досліджень є технологія біологічно активних речовин ліпідної та білкової природи. Предмет досліджень – показники якості й безпеки чорноморської трав'яної креветки в різні періоди промислу, екстракти ліпідів з каротиноїдами і комплекс ферментів з колагенолітичною активністю, зміни показників упродовж зберігання.

Складено загальну схему проведення досліджень. Визначено методи досліджень: органолептичні, фізико-хімічні, структурно-механічні, мікробіологічні, математичного моделювання та статистичної обробки результатів дослідження.

Досліджено розмірно-масовий склад чорноморської креветки в різні періоди промислового вилову (весняний та осінній). Так, маса креветок складає від 0,88 до 2,84 г, довжина тіла – 4,32 – 6,50 см за такого співвідношення основних частин тіла: м'ясо шийки – 31,45 – 37,23; гепатопанкреас – 12,26 – 14,11; панцир головної та черевної частин – 35,51 – 41,33; серце, статеві органи, шлунок – 8,00 % відповідно.

За показниками хімічного складу м'ясо шийки креветки є білковою сировиною і сировиною низької жирності та містить білка в межах 14,5–15,50 % з усіма незамінними амінокислотами на рівні, більшому, ніж в ідеальному білку; жирів – 0,99 %. Гепатопанкреас характеризується як жирна сировина (11,50 %) з високим вмістом фосфоліпідів (16,8–29,20 %), поліненасичених жирних кислот ω -3 (40,0–42,70 %) та середньобілкова сировина (9,90 %). Гепатопанкреас містить ферменти з колагенолітичною дією, активність яких складає 90 од/мг білку. Вміст каротиноїдів складає від 125,35 до 141,04 мг/г. Ідентифіковано цис - астаксантин з R_f -0,23 при довжині хвилі 483 нм, та транс – астаксантин з R_f – 0,32 та довжині хвилі 485 нм. За мікробіологічними показниками, вмістом важких металів і радіонуклідів чорноморська трав'яна креветка відповідає вимогам до безпечних харчових продуктів.

Результати порівняльного аналізу масового та хімічного складу чорноморської трав'яної креветки погоджуються з аналогічними показниками інших ракоподібних тварин, що дає можливість рекомендувати цей вид для глибокої переробки, яка полягає у використанні усіх частин тіла для вилучення біологічно активних речовин білкової та ліпідної природи.

За допомогою математичного моделювання, а саме методу планування трифакторного експерименту в програмі Statgraphics Plus у вигляді ортогонального центрального композиційного плану із зірковими точками (за використання як факторів функцій таких технологічних параметрів: ступеня подрібнення, частки ацетону й часу екстракції) отримано оптимальні значення функцій відгуку: вихід ліпідно-каротиноїдного концентрату – 10,1 % від загального хімічного складу, ступінь подрібнення – 3,7 мм, співвідношення сировини й ацетону 1:7,9 за часу екстракції 30 хв. Визначено поверхню відгуку із точністю 95,3 % відповідно до заданих параметрів, яка описує мінливість функції Y.

Встановлено, що час подрібнення сировини до розмірів переважної фракції – 3,00–3,50 мм до 85 % – становить 30 хв.

Екстрагування ліпідно-каротиноїдного комплексу у охолоджену ацетоні за температури -20°C та двохкратного екстрагування протягом 30 хв кожна забезпечує найбільш високий вихід ПНЖК за показником – числом йоду: 181,28 г J/100 г ліпідів, фосфоліпідів і каротиноїдів.

Встановлено, що питома активність ферментів колагенолітичної дії на рівні $91,76 \pm 2,01$ од/мг білка забезпечується за концентрації сульфату амонію 60–70 % від насичення, екстрагування в охолоджену ацетоні за -20°C та співвідношення сировини й розчинника 1:9.

Визначено допустимий термін зберігання чорноморської трав'яної креветки в замороженому стані за -20°C до 6 міс.

Удосконалено технологічну схему комплексної переробки неїстівних частин чорноморської трав'яної креветки, яка дозволяє в єдиному технологічному циклі отримати біологічно активні сполуки – ліпіднокаротиноїдний комплекс, комплекс ферментів колагенолітичної дії та хітинбілково-мінерального щільного залишку.

Визначено органолептичні та фізико-хімічні властивості ліпіднокаротиноїдного комплексу, вилученого з головогрудей чорноморської трав'яної креветки різних періодів вилову. За органолептичними властивостями ліпіднокаротиноїдний комплекс є однорідною рідкою масою червоно-коричневого кольору з приємним смаком і запахом. За допомогою

органолептичної оцінки й оцінки методом створення спектра флейвору визначено переваги ліпіднокаротиноїдного комплексу з чорноморської креветки осіннього вилу.

За фізико-хімічними показниками ліпідно-каротиноїдний комплекс характеризується вмістом жиру до $99,78 \pm 0,99$ %, каротиноїдів – до $140,22 \pm 1,87$ мг/г жиру, кислотним числом – $1,51 \pm 0,23$ мг КОН/г жиру, пероксидним – до $1,35 \pm 0,24$ ммоль акт. O_2 /кг жиру, тіобарбітуровим – $0,58 \pm 0,01$ – $0,65 \pm 0,02$ мг МА на 1 кг жиру та йодним числом – $180 \pm 13,21$ – $210 \pm 12,43$ г J/100 г жиру. Екстракція ліпідно-каротиноїдного комплексу супроводжується підвищенням сумарної кількості поліненасичених жирних кислот до 27,24–42,70 %; зниженням суми мононенасичених жирних кислот на 13,68–9,30 % та суми ненасичених жирних кислот – на 28,69–32,19 % відповідно з сировини весняного й осіннього періодів вилу.

Встановлено терміни зберігання ліпідно-каротиноїдного комплексу за показниками пероксидного та кислотного числа жиру за температури $+4^\circ C$ – до 10 місяців, за температури $-10^\circ C$ – до 20 місяців.

Високий вміст поліненасичених жирних кислот у складі ліпіднокаротиноїдного комплексу, зокрема жирних кислот родини ω -3 52,13 і 55,10 % та каротиноїдів, свідчать про високу біологічну цінність цього продукту й дозволяють вважати його біологічно активною дієтичною добавкою.

Визначено, що комплекс білкових сполук, вилучених з головогрудей чорноморської трав'яної креветки, проявляє властивості колагенолітичної дії за показниками питомої активності ферментів 91,76 од/мг білка. Доведено, що концентрат ферментів колагенолітичної дії належить до біологічно активних речовини може бути рекомендований для використання у харчовій промисловості та для виробництва кормів для риб.

Встановлено закономірності зменшення активності ферментів залежно від терміну зберігання за різних температур: від $+4$ до -10 і $-20^\circ C$, що дозволяє обмежити термін їх зберігання в розчиненому вигляді – не більше ніж 2 години, в сухому – за $+4^\circ C$ – до 6 місяців, за $-10^\circ C$ – до 14 місяців, за $-20^\circ C$ – 14 місяців.

Визначено хімічний склад хітино-білково-мінерального щільного залишку після екстрагування жирової компоненти та комплексу ферментних препаратів з головогруді чорноморської трав'яної креветки. Доведено, що цей залишок містить високу кількість білка (68,33–70,52 %), хітину (13,43–15,97 %), золи (4,87–7,21 %) і може бути рекомендованим для використання у складі кормів.

Дослідження спрямовано на відділення біологічно активних речовин з неїстівних частин тіла – гепатопанкреаса, ліпідів, збагачених жирними кислотами родини ω -3,

картиноїдами (астаксантином), а також комплексу ферментних препаратів з колагенолітичною дією.

Ключові слова: удосконалення технології, чорноморська креветка, масовий склад, біохімічні властивості, біологічно активні речовини, ліпіднокаротиноїдний комплекс, ферменти колагенолітичної дії, показники якості та безпеки, термін зберігання.

ANNOTATION

Lebsky S. O. Substantiation and development of technology of biologically active additives of protein and lipid nature from the Black Sea grass shrimp (*Palaemon adspersus* Rathke, 1837). – Qualifying scientific work on the rights of the manuscript.

The dissertation on competition of a scientific degree of the doctor of philosophy in a specialty 181 «Food Technologies». National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine. Kyiv, 2023.

In the dissertation work on the basis of the analysis of modern technologies of deep processing of crustaceans theoretically substantiated and experimentally confirmed expediency of processing of one of mass species of crustaceans of the Black Sea – Black Sea grass shrimp *Palaemon adspersus* Rathke, 1837 for extraction of biologically active lipids and enzymes. Ukraine has its own resources for this species of crustaceans, but the catch is not sold in sufficient quantities due to the lack of technologies for deep processing. This type is present on the Ukrainian market in frozen and cooked frozen form. At the same time, many studies by foreign scientists have shown that inedible parts of the body of crustaceans – hepatopancreas contains biologically active lipids with large amounts of polyunsaturated fatty acids ω -3, carotenoids (astaxanthin) and a complex of enzymes of collagenolytic action. On the basis of these researches technologies of extraction of biologically active substances of lipid and protein nature are developed. These issues were studied by such scientists as L. V. Bal-Prylypko, L. A. Elyakov, T. K. Lebska, I. Ya. Sakharov, G. N. Rudenska, A. Albalat, D. Xie, R. Muzareli, et al. However, the developed technologies involve the removal of one biologically active substance: chitin, or enzyme preparations, or lipids with carotenoids. Therefore, substantiation and development of technology of deep processing of this type of shrimp with removal of a complex of biologically active substances is an urgent task.

The aim of the study is to develop a scientifically sound technology of biologically active lipids and enzyme preparations from Black Sea shrimp.

The current state of the market and fish products in Ukraine is characterized by an increase in catches of fish and other aquatic organisms, and an increase in the level of consumption of fish products. It is established that the main raw materials are supplied to Ukraine through imports. Lack of own production of fish and fish products is provided by imports. Prospects for the

development of aquaculture in Ukraine, including crustaceans, and increase the level of provision of the population with domestic products.

Modern technologies for processing crustaceans have been proven to involve the integrated use of all parts of the body: shell, meat, hepatopancreas, lipid component and collagenolytic enzymes. However, the issue of complex processing of the raw material base of Black Sea grass shrimp in Ukraine has not been sufficiently studied.

The complex technology of crustacean processing on the example of Black Sea grass shrimp for extraction of lipid-carotenoid complex and enzyme preparations of collagenolytic action is theoretically substantiated. Among the lipids of crustaceans, a large number of phospholipids, fatty acids of the ω -3 family, and carotenoids have been identified. Crustacean hepatopancreas contains collagenolytic enzymes that are widely used in medicine and food industry. Therefore, the expediency of complex processing of industrial crustaceans in Ukraine – Black Sea shrimp for the extraction of biologically active compounds has been proved.

The object of research is the technology of biologically active compounds of lipid and protein nature. The subject of research is indicators of quality and safety of Black Sea shrimp in different periods of fishing, lipids extracts with carotenoids and a complex of enzymes with collagenolytic activity, changes in indicators during storage.

The general scheme of carrying out researches is made. Research methods have been identified, which include organoleptic, physicochemical, structural-mechanical, microbiological, method of mathematical modeling and statistical processing of research results.

The size and mass composition of Black Sea shrimp in different periods of commercial fishing (spring and autumn) was studied. Thus, the weight of shrimp is from 0,88 to 2,84 g, the body length is 4,32–6,50 cm for the following ratio of the main parts of the body: neck meat – 31,45–37,23; hepatopancreas – 12,26–14,11; carapace of the head and abdominal parts – 35,51–41,33; heart, genitals, stomach – 8,00 %, respectively. According to the indicators of the chemical composition, the meat of the shrimp neck is a protein raw material and a low-fat raw material and contains protein in the range of 14,5–15,50 % with all essential amino acids at a level greater than in the ideal protein; fats – 0,99 %. Hepatopancreas is characterized as a fatty raw material (11,50 %) with a high content of phospholipids (16,8–29,20 %), ω -3 polyunsaturated fatty acids (40,0–42,70 %) and medium protein raw material (9,90 %). The hepatopancreas contains enzymes with a collagenolytic effect, the activity of which is 90 units/mg of protein. The content of carotenoids ranges from 125,35 to 141,04 mg/g. Cis – astaxanthin with Rf–0.23 at a wavelength of 483 nm, and trans – astaxanthin with Rf – 0,32 at a wavelength of 485 nm were identified. According to microbiological indicators, the content of heavy metals and radionuclides, the Black Sea grass shrimp meets the requirements for safe food products. The results of a comparative

analysis of the mass and chemical composition of the Black Sea grass shrimp agree with similar indicators of other crustaceans, which makes it possible to recommend this species for deep processing, which consists in using all parts of the body to extract biologically active substances of protein and lipid nature.

Shrimp lipids are characterized by a high content of PUFA ω -3, phospholipids and carotenoids and can be recommended to improve the technology of complex processing to remove these compounds.

Shrimp hepatopancreas contains a complex of enzymes with collagenolytic activity, which corresponds to similar enzymes from other species of crustaceans and is of interest for the extraction of these enzymes and use for medical purposes.

The mineral composition of Black Sea shrimp is represented by all the essential, little-studied and toxic elements, the level of which corresponds to safe raw materials.

According to a set of microbiological indicators, Black Sea shrimp is safe and can be used for food and the production of biologically active compounds.

Mathematical modeling – a method of planning a three-factor experiment in Statgraphics Plus in the form of an orthogonal central composite plan with star points when using as function factors the following technological parameters: grinding rate, acetone content and extraction time obtained optimal values of response functions: % of the total chemical composition, the degree of grinding – 3,7 mm, the ratio of raw materials and acetone 1:7,9 at the extraction time for 30 minutes The response surface is determined with an accuracy of 95,3 % according to the specified parameters and describes the variability of the function Y.

The time of grinding of raw materials to the size of the predominant fraction of 3,00–3,50 mm to 85 %, which is 30 minutes.

Extraction of the lipid-carotenoid concentrate at a temperature of -20° C and double extraction for 30 min each provides the highest content of PUFA in the indirect indicator – the number of iodine: 181,28 g J/100 g.

It was found that the specific activity of enzymes of collagenolytic action at the level of $91,76 \pm 2,01$ units/mg of protein is provided at a concentration of ammonium sulfate 60–70 % of saturation, extraction in chilled acetone at -20° C and the ratio of raw material and solvent 1:9.

The permissible shelf life of Black Sea shrimp at -20° C for up to 6 months has been determined.

The technological scheme of complex processing of inedible parts of the Black Sea grass shrimp has been improved, which allows in a single technological cycles to obtain biologically active compounds – lipid-carotenoid complex and enzyme preparation of collagenolytic action.

The organoleptic and physicochemical properties of the lipid-carotenoid concentrate (LKK) from the cephalothorax of Black Sea grass shrimp of different catch periods were determined. According to the organoleptic properties of the LKK is a homogeneous liquid mass of reddish-brown color with a pleasant taste and smell. Organoleptic evaluation and evaluation by the method of creating a spectrum of flavor determined the benefits of LKK from the Black Sea shrimp of autumn catch.

According to physicochemical parameters, LKK is characterized by a fat content of up to $99,78 \pm 0,99$ %, carotenoids – up to $140,22 \pm 2,87$ mg/g fat, acid number – $1,51 \pm 0,23$ mg KOH/g fat, peroxide – up to $1,35 \pm 0,24$ mmol act.O₂/kg fat, thiobarbitur – $0,58 \pm 0,01$ – $0,65 \pm 0,02$ mg MA per 1 kg of fat and iodine value – $180 \pm 13,21$ – $210 \pm 12,43$ g J/100 g fat. Extraction of LCC is accompanied by an increase in the total amount of PUFA by 27,24–42,70; reducing the amount of MNZhK by 13,68–9,30; and the amount of NLC – by 28,69–32,19 %, respectively, from the raw materials of the spring and autumn catch periods.

Terms of storage of LKK on indicators of peroxide and acid number of fat at a temperature of + 4° C – to 10 months, at a temperature of –10° C – to 20 months are established.

The properties of carotenoids, the amount of which in the lipid-carotenoid concentrate of the autumn fishing period exceeds this indicator in the lipid-carotenoid concentrate of spring catch by 40 mg/kg of fat, have been studied. Black Sea shrimp carotenoids are mainly astaxanthin.

The high content of PUFA in the composition of LKK, in particular fatty acids ω -3: 52,13 and 55,10 % and carotenoids indicate the high biological value of this product and allow it to be classified as a biologically active supplement.

It was determined that the complex of protein compounds extracted from the cephalothorax of the Black Sea grass shrimp exhibits collagenolytic properties in terms of specific activity of enzymes in relation to acid-soluble collagen 91,76 IU/mg protein. It has been proved that the concentrate of enzymes of collagenolytic action refers to biologically active compounds and can be recommended for use in the food industry and for the production of fish feed.

Regularities of reducing the activity of enzymes depending on the shelf life at different temperatures: from 4 to -10 and -20° C, which limits the shelf life of their dissolved form – no more than 2 hours, dry – at 4° C – up to 6 months, at -10° C – up to 14 months, at -20° C – more than 14 months.

The chemical composition of the dense residue after extraction of the fat component and the complex of enzyme preparations from the head of the Black Sea grass shrimp was determined. It is proved that this residue contains a high amount of protein (68,33–70,52 %), chitin (13,43–15,97 %), ash (4,87–7,21 %) and can be recommended for use in feed composition.

The study is aimed at separating biologically active substances from inedible parts of the body – hepatopancreas, lipids enriched with fatty acids of the ω -3 family, carotenoids (astaxanthin), and a complex of enzyme preparations with collagenolytic action.

Key words: technology improvement, Black Sea shrimp, mass composition, biochemical properties, lipid-carotenoid concentrate, enzymes of collagenolytic action, quality and safety indicators, shelf life, conditions of separation of biologically active compounds.