

УДК [577.112:66.094]:[664.022.3-035.63/.64:636.087]

ВИННОВ А.С., канд. техн. наук, доцент, ПАНТЕЛЕЕНКО В.С., магистр,

Национальный университет биоресурсов и природопользования Украины

МАНОЛИ Т.А., канд. техн. наук, доцент

Одесская национальная академия пищевых технологий

КОЛИЧЕСТВЕННАЯ ОЦЕНКА СРОДСТВА ПРОМЫШЛЕННЫХ ФЕРМЕНТНЫХ ПРОТЕОЛИТИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ К БЕЛКАМ РЫБЫ, ПТИЦЫ И ПОДСОЛНЕЧНОГО ШРОТА

Приведены данные по химическому составу мышечных тканей цыплят-бройлеров, бычка азовского, шрота подсолнечника. Получены экспериментальные зависимости скорости ферментативного гидролиза от концентрации белка в фермент-субстратных системах и рассчитаны значения константы Михаэлиса для промышленных ферментных протеолитических препаратов Corolase® L10 и Corolase® L7089.

Ключевые слова: константа Михаэлиса, сродство, Corolase® L10 и Corolase® L7089.

The chemical composition of broiler chickens muscles, marble goby and sunflower meal is presented. The experimental results of enzymatic hydrolysis velocity in dependence of the protein concentration in substrate systems are set/ Michaelis constants values for industrial proteolytic enzymes Corolase® L10 and Corolase® L7089 are calculated.

Keywords: Michaelis constant, affinity, Sorolase® L10 and Sorolase® L7089.

В настоящее время в мире наблюдается растущий дефицит пищевого и кормового белка. Одним из путей смягчения этой ситуации, прежде всего в отношении кормовых белков, может быть производство гидролизатов - высокоусвояемых продуктов с высоким содержанием свободных аминокислот и пептидов различной молекулярной массы. Белковые гидролизаты находят широкое применение как самостоятельные продукты, так и продукты для балансировки аминокислотных формул различных крупяных, мучных, фаршевых изделий, кормов домашних и сельскохозяйственных животных, птицы, объектов аквакультуры, а также в качестве вкусообразователей различных супов, соусов, салатов, рыбных, мясных и овощных блюд.

Сырьем для производства гидролизатов могут служить пищевые отходы и мелкие виды рыбы, побочные продукты переработки птицы – мясокостный остаток цыплят-бройлеров, а также различные высокобелковые растительные шроты и жмыхи [2,3,4].

В производстве белковых гидролизатов могут быть использованы технологии реагентного (кислотный и щелочной) и ферментативного гидролиза.

В основе получения кислотных белковых гидролизатов лежит процесс деградации белков при температуре 100...130°C и низких значениях pH с использованием минеральных кислот - соляной, серной, ортофосфорной. Степень гидролиза определяется содержанием азота свободных аминокислот (ФТА). Гидролиз обычно заканчивают, когда значение ФТА составляет 35... 58 % от величины общего азота в гидролизате. После окончания гидролиза, полуфабрикат нейтрализуют гидроксидом натрия или углекислым натрием до pH 4,5...7,0.

Химический состав кислотных гидролизатов зависит от вида использованного сырья и условий гидролиза. В процессе кислотного гидролиза серин, треонин, гистидин, фенилаланин, тирозин, триптофан частично или полностью разлагаются или изомеризуются до неусвояемых D-изомеров. Эти модифици-

ты аминокислот могут являться ингибиторами клеточного роста. Алифатические аминокислоты - изолейцин, лейцин, валин - стабильны при кислотном гидролизе, но после нейтрализации обычно переходят в осадок. Биологически активные низкомолекулярные пептиды, в результате кислотного гидролиза претерпевают структурные деформации и не различаются рецепторами клеток.

Щелочные гидролизаты получают, используя, как правило, гидроксид натрия. Этот способ более щадящий, но при щелочном гидролизе происходит рацемизация некоторых аминокислот, а также разрушение аргинина, лизина, цистина и цистеина.

При ферментативном гидролизе разрушение и изомеризация аминокислот отсутствует. Основная проблема технологий, основанных на процессе ферментативного гидролиза, - это опасность развития гнилостной микрофлоры. Снизить угрозу микробиологической порчи продукта можно, применяя различные консерванты или интенсифицируя процесс гидролиза с использованием высокоактивных ферментов, т.е. ферментный препарат должен обладать максимальным сродством к белкам-субстратам сырья и сохранять свою активность в результате возможного ингибирования продуктами реакции.

Явление сродства фермента к субстрату и его оценка были рассмотрены в фундаментальных трудах по кинетике ферментативных процессов. Это свойство фермент-субстратных систем отражено в уравнении Михаэлиса-Ментен в виде константы Михаэлиса (K_m). Величина этой константы количественно равна концентрации субстрата, при которой достигается скорость процесса, равная половине максимальной. Чем меньше величина K_m , тем выше сродство фермента к субстрату и выше эффективность катализируемого процесса [1].

Классический подход к кинетике ферментативных реакций рассматривает вариант фермент-субстратной системы в состоянии раствора. Однако в реальных технологических процессах, эта система представляет собой сложную смесь многокомпонентного субстрата, частично в растворенном, а частично во взвешенном состоянии, и промышленного ферментного препарата, который содержит несколько индивидуальных ферментов. К таким субстратным системам, как правило, относятся суспензии измельченных тканей при производстве гидролизатов из мясного, растительного и рыбного сырья. Подобные сложные фермент-субстратные системы ранее кинетическому анализу не подвергались. Очевидно, что экспериментально-теоретический кинетический анализ этих систем содержит элемент научной новизны и представляет бесспорный практический интерес.

Таблиця 1

Химический состав сырья для формирования фермент-субстратных систем

Объект исследования	Азотистые вещества, мг/100 г			Мас со-вая доля вла-ги, %	Мас со-вая доля жи-ра, %	Массо-вая до-ля ми-нераль-ных ве-ществ, %
	Об-щий азот, (ОА)	Небел-ковый азот, (НБАо)	Белко-вый азот, (ОА-НБА)			
Филе бычка	2750	160	2590	74,8	3,4	4,6
Грудные мышцы цыплят - бройлеров	3136	144	2992	76,2	1,8	1,23
Шрот подсол-нечника	6336	85	6251	9,8	1,05	3,4

Таким образом, цель настоящей работы со-стояла в оценке степени сродства наиболее рас-пространенных промышленных протеолитиче-ских ферментных препаратов к белкам-субстратам мяса теплокровных организмов, рыбы и растений.

Для достижения поставленной цели в рабо-те рассматривались следующие задачи:

- исследовать химический состав принятых к исследованиям субстратов;

- на основании полученных эксперимен-тальных данных по химическому составу сфор-мировать модельные фермент-субстратные си-стемы;

- получить экспериментальные зависимости скорости ферментативного гидролиза и рассчи-тать значения константы Михаэлиса для рассмот-ренных фермент-субстратных систем;

Для формирования субстратной системы были использованы следующие виды сырья - грудные мышцы цыплят-бройлеров мясного кросса «ROSS-308», филе азовского бычка - кругляка (*Gobius melanostomus*) и шрот подсолнечника по ГОСТ 11246.

В исследованиях применяли распространенные в пищевой промышленности протеолитические препа-раты производства компании Enzymes GmbH (ФРГ) - Corolase® L10 и Corolase® L7089 с декларированной активностью 850 УНб/г.

Corolase® L10 – ферментный препарат расти-тельного происхождения на основе сока папайи, а препарат Corolase® L7089 получен из культуральной жидкости глубинного культивирования *Bacillus subtilis*. Оба ферментных препарата соответствуют требованиям комитета FAO/WHO для пищевых доба-вок (JECFA) и Кодекса пищевых компонентов (FCC).

О химическом составе сырья судили по содер-жанию влаги, общего и небелкового азота, липидов, экстрагируемых этиловым эфиром, минеральных ве-ществ.

Скорость процесса ферментализации оценивали по количеству гидролизованного белка в единицу време-ни и рассчитывали по формуле:

$$V = \frac{6,25 \cdot (НБА - НБА_0)}{\tau}$$

НБА - количество небелкового азота после ин-кубации, мкг/100г; *НБА₀* - количество небелкового азота в сырье, мкг/100г; τ - продолжительность инку-бации, мин.

Определение общего азота, массовой доли влаги, липидов проводили стандартными методами. Опреде-ление небелкового азота по методу Кьельдаля после осаждения высокомолекулярных белков трихлорук-сусной кислотой осуществляли на автоматическом анализаторе VELP Scientifica.

Результаты исследования химического состава принятого сырья представлены в таблице 1.

Полученные данные позволили сформировать в виде водных диспергатов фермент-субстратные си-стемы из измельченной грудной мышечной ткани цыплят-бройлеров, филе азовского бычка и шрота подсолнечника с диапазоном концентрации белка

субстратов 0...60 мг/100 г и концентрацией фермент-ных препаратов Corolase® L10 и Corolase® L7089 10 мг/100г.

Гидролиз проводили при температуре 50 °С в те-чение 120 минут при постоянном перемешивании.

Экспериментальные результаты исследования зависимости скорости гидролиза от концентрации субстрата на основе мышечной ткани цыплят-бройлеров представлены на рисунке 1.

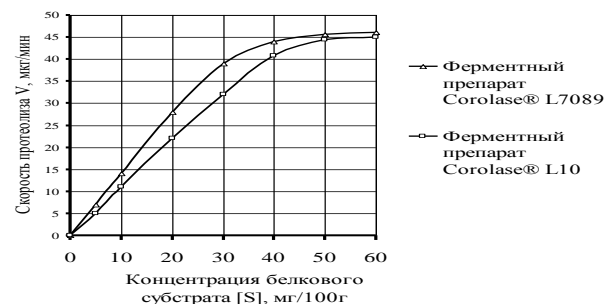


Рис. 1. Зависимость скорости протеолиза от концентрации субстрата на основе белков цыплят - бройлеров

Анализ полученных данных позволяет опреде-лить максимальную скорость процесса на уровне 44 мкг/мин для ферментного препарата Corolase® L10 и 45 мкг/мин для ферментного препарата Corolase® L7089.

Для ферментного препарата Corolase® L10 уравнение, аппроксимирующее зависимость $V/[S]$ имеет вид: $V=10 \cdot 7[S]5 - 10 \cdot 5[S]4 + 4 \cdot 10 \cdot 4[S]3 - 1,6 \cdot 10 \cdot 3[S]2 + 1,0663[S]$. Решение этого уравнения относи-тельно $[S]$ для значения $V = 0,5V_{max} = 22$ мкг/мин позволило получить значение константы Михаэлиса. $K_m = 19,5$.

Для ферментного препарата Corolase® L7089 уравнение, аппроксимирующее зависимость $V/[S]$ имеет вид: $V=9 \cdot 10 \cdot 6[S]4 - 1,2 \cdot 10 \cdot 3[S]3 + 2,82 \cdot 10 \cdot 2[S]2 + 1,2356[S]$, а его решение для значения $V = 0,5V_{max} = 22,5$ мкг/мин дает значение константы Михаэлиса $K_m = 15,9$.

Зависимости скорости ферментативного гидролиза гидролиза от концентрации субстрата на основе мышечной ткани рыбы представлены на рисунке 2.

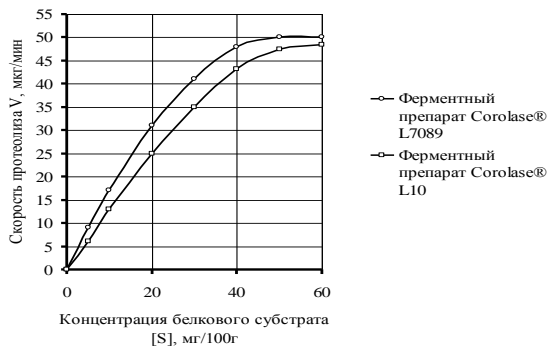


Рис. 2. Зависимость скорости протеолиза от концентрации субстрата на основе белков рыбы

В этом случае аппроксимирующие зависимости имеют вид: $V = -0,0001[S]^3 - 0,0011[S]^2 + 1,3067[S]$ для ферментного препарата Corolase® L10 и $V = -4 \cdot 10^{-6}[S]^3 - 0,0176[S]^2 + 1,8979[S]$ для ферментного препарата Corolase® L7089. Решение полученных уравнений для значений $V = 0,5V_{max}$ позволили получить следующие значения константы Михаэлиса:

Corolase® L10 - $K_m = 18,9$;

Corolase® L7089 - $K_m = 15,4$.

Аналогичные исследования, проведенные для фермент-субстратных систем на основе шрота подсолнечника (рис.3), позволили получить аппроксими-

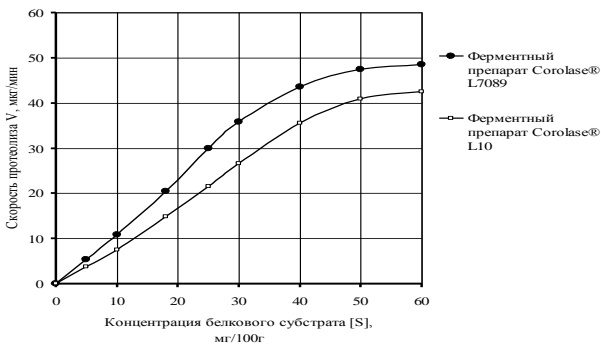


Рис. 3. Зависимость скорости протеолиза от концентрации субстрата на основе белков подсолнечного шрота

4. Куцакова, В.Е. Производство мясных продуктов с использованием гидролизатов мясокостного остатка [Текст] / В.Е. Куцакова, М.И. Кременевская, А.С. Москвичев, Е.В. Чернышева // Актуальные проблемы качества и безопасности продовольственного сырья и пищевой продукции: Матер. междунар. науч.-практ. конф. – Краснодар, 2005. – С. 226.

УДК 504.064:664.6.013

КРУСІР Г.В., д-р техн. наук, доцент, ЯШКІНА В.В., канд. техн. наук, асистент,

КІРІЯК Г.В., канд. хім. наук, асистент

Одеська національна академія харчових технологій

РОЗРАХУНОК ЕКОЛОГІЧНОГО СЛІДУ ХЛІБОПЕКАРСЬКОГО ПІДПРИЄМСТВА

Для визначення екологічного впливу хлібопекарського підприємства на навколишнє середовище використовували «екологічний слід», який на сьогодні є одним з найбільш точних методів визначення екологічності підприємства. В результаті показано, що робота підприємства супроводжується виникненням екологічного дефіциту.

Ключові слова: екологічний слід, екологічність, біоємність, екологічний дефіцит, хлібопекарське підприємство.

Ecological footprint calculations of enterprise is given. To identify the environmental impact of bread-making enterprise on the environment there are indicators such as «ecological footprint», which currently is one of the most exact eco-stability indicators, and biocapacity. The re-

сульты show that the work of the enterprise is accompanied by the ecological deficit emergence.

Keywords: ecological footprint, biocapacity, ecological deficit, bread-making enterprise.

Серед концепцій та стратегій модернізації, що сприяють сталому розвитку, виділено концепцію «чистого виробництва», яка передбачає модернізацію промислового виробництва відповідно до екологічних стандартів, бізнесову стратегію «еко-ефективності», в

руючі уравнения:
 $V = -0,0003[S]^3 + 0,00112[S]^2 + 1,0546[S]$ для ферментного препарата Corolase® L7089 и
 $V = -0,0003[S]^3 + 0,0176[S]^2 + 0,5957[S]$ для ферментного препарата Corolase® L10.

В этом случае значение константы Михаэлиса составляет 23,69 для ферментного препарата Corolase® L10 и 18,21 для Corolase® L7089. Из сравнительного анализа полученных значений константы Михаэлиса следует, что ферментный препарат Corolase® L7089 имеет более высокое сродство в белкам всех рассмотренных субстратных систем. При этом сродство к белкам субстрата убывает в ряду: субстрат на основе белков рыбы > субстрат на основе белков птицы > субстрат на основе белков растительного происхождения.

Полученные результаты можно объяснить особенностями белкового состава исходного сырья и возможным наличием ингибиторов протеаз в шроте подсолнечника.

Выводы:

1. Подтверждена целесообразность применения экспериментально-теоретического кинетического анализа для определения величины сродства протеаз к белкам в сложных дисперсионных субстратных системах.

2. Экспериментально установлено, что белки азовского бычка способны к более интенсивному ферментативному гидролизу ферментными препаратами Corolase® L10 и Corolase® L7089, чем белки мышечной ткани цыплят бройлеров и шрота подсолнечника.

3. Выявлено, что ферментный препарат микробиологического происхождения Corolase® L7089 обладает большим сродством к белкам всех рассмотренных субстратов, чем ферментный препарат растительного происхождения Corolase® L10. Поступила 05.2012

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Уайт, А. Основы биохимии [Текст] / А. Уайт, Ф. Хендлер, Э. Смит, Р. Хилл, И. Леман - М.: Издательство «Мир», 1981. т.1.- 523 с.
2. Румянцев, Г.Н. Биокаталитические технологии пищевых белков и полисахаридов [Текст] / Г.Н. Румянцев // Монография. - М.: МГУПБ, 2007. 233 с.
3. Румянцев, Г.Н. Научные и практические аспекты использования ферментативного катализа в пищевой промышленности [Текст] / Г.Н. Румянцев, Н.И. Дунченко. Монография. - М.: МГУПБ, 2007. 101 с.