

ХИМИЧЕСКАЯ СУЩНОСТЬ ПРОЦЕССА ПОЛУЧЕНИЯ БЕЛКОВОГО ПРЕПАРАТА ИЗ ТРЕСКИ

Кандидат технических наук А. И. Юдицкая
Лаборатория жиров ВНИРО

В 1951 г. в Лаборатории жиров ВНИРО были поставлены опыты по получению белкового препарата из целой трески по методу, разработанному Н. И. Рехиной для филе этой рыбы. Опыты дали положительные результаты.

При получении белкового препарата потрошенная треска после измельчения на волчке обрабатывается слабым раствором уксусной кислоты при нагревании до 60—65°. После промывки и удаления излишней влаги массу обрабатывают при нагревании этиловым спиртом. Затем производится обработка слабым раствором едкого натра. Перешедший в раствор белок отделяют фильтрованием от нерастворившегося остатка (костей, плавников, хрящей и пр.). После нейтрализации уксусной кислотой до pH 7,5 и высушивания в распылительной сушилке получается тонкий порошок желтовато-серого цвета.

В нашей работе мы ставили своей целью выяснить химическую сущность приведенного выше технологического процесса получения белкового препарата. Для опытов была взята свежемороженая треска.

Характеристика сырья, полупродуктов и готового препарата приведена в табл. 1, 2, 3.

Таблица 1
Химический состав сырья полупродуктов и готового препарата из трески (в %)

Объект исследования	Влага	На сухое вещество					
		жиро- вые веще- ства	мине- раль- ные веще- ства	белок (об- щий азот ×6,25)	общий азот	белко- вый азот	оста- точ- ный азот
Сырье	78,86	3,78	12,49	91,34	14,62	14,19	0,43
Масса, обработанная уксусной кис- лотой	53,80	2,55	10,48	91,39	14,62	14,17	0,45
Обезжиренная масса	13,24	0,46	9,97	90,56	14,12	14,12	0,0
Нейтрализованный щелочный раст- вор белка	88,55	—	—	87,30	13,97	—	—
Нерастворимый остаток (высушенный)	8,60	0,23	61,31	38,08	6,09	—	—
Отстой щелочного раствора белка (высушенный)	3,64	0,33	30,74	67,08	10,73	—	—
Готовый препарат	10,02	0,12	12,05	85,40	13,46	11,17	2,30

Обработка уксусной кислотой является первой операцией по ходу процесса, когда происходит изменение химического состава сырья.

Химический состав массы после обработки уксусной кислотой отличается от состава сырья значительно меньшим содержанием влаги,

Химический состав жидкостей после уксуснокислой обработки (в %)

Объект исследования	Содержание растворимых веществ			Содержание азота			
	общее	органических	неорганических	общего	белкового	остаточного	коллагенового
Отработанная уксусная кислота . . .	2,39	1,79	0,60	0,32	0,29	0,03	0,11
Первая промывная вода	0,92	0,73	0,19	0,12	—	—	—
Вторая и третья промывная вода . .	0,43	0,33	0,10	0,06	—	—	—

жировых и минеральных веществ. Выход массы после уксуснокислой обработки (табл. 3) составляет 32,1% от сырья. При этом теряется 20,9% азотистых веществ, 46,9% жировых и 44,8% минеральных веществ (от исходного содержания в сырье). Удаление значительного количества жировых и минеральных веществ является одной из положительных сторон процесса уксуснокислой обработки и обуславливает малую жирность и зольность готового белкового препарата. Потери азотистых веществ весьма не желательны, но часть этих потерь является технологически необходимой.

В начале процесса под действием уксусной кислоты мышечная ткань трески начинает распадаться на отдельные волокна, на дне сосуда постепенно оседают кусочки костей, плавников, хрящей и т. п. Отработанная уксусная кислота представляет собой липкую желтоватую жидкость; при стоянии из нее выпадает белый хлопьевидный осадок. Качественный и количественный анализ отработанной уксусной кислоты (табл. 2) показал, что в ней присутствуют растворимые белки, а также глютины (продукты частичного распада коллагена). Количество последних составляет, примерно, треть общего содержания белковых веществ в отработанной уксусной кислоте.

Распад и растворение коллагена соединительной ткани трески является основным следствием уксуснокислой обработки. Благодаря этому явлению, ослабляется связь между волокнами ткани трески, ткань разрыхляется и тем самым облегчается доступ реагентов к структурным элементам в последующих операциях обработки. Одновременно с переходом в раствор глютинов происходит растворение части полноценных белков, что является крайне нежелательным.

Анализ осадка, выделенного из отработанной уксусной кислоты, показал, что в нем также содержатся белковые вещества: осадок содержит свыше 14% азота. Повидимому, этот осадок образуется в результате коагуляции растворимых белков в уксусной кислоте при нагревании.

При применявшейся по ходу технологического процесса декантации отработанной уксусной кислоты потери коагулята растворимых белков очень значительны. Замена декантации центрифугированием позволит избежать этих потерь. Кроме этого, центрифугирование позволит уменьшить объем промывных вод.

Мы не занимались пока изучением процесса спиртовой обработки, результатом которого является дезодарация и обезжиривание белковой массы. Можно сказать только, что при этой операции происходит дальнейшее изменение химического состава полупродукта: значительно уменьшается содержание влаги и жира.

Выход массы после обработки спиртом составляет 15,6% (от сырья). Потери жировых веществ достигают 38,8%, потери азотистых — 8,3% и потери минеральных веществ — 8,5% (от содержания в сырье).

Баланс основных веществ сырья в процессе изготовления белкового препарата из трески
(в лабораторных условиях)

Объект исследования	Баланс сырья			Баланс азотистых веществ				Потери азотистых веществ с отходами				Баланс жировых веществ				Баланс минеральных веществ		
	в г	в % к исходному	потери (в %)	в г	в % к исходному	в % к потерям	межоперационная потеря (в %)	отходы (в г)	азотистые вещества (в г)	в % к исходному	межоперационная потеря (в %)	в г	в % к исходному	в % к потерям	межоперационная потеря (в %)	в г	в % к исходному	в % к потерям
Сырье	1220	100	0,0	240	100	0,0	8,3	—	—	—	—	9,8	100	0,0	—	31,7	100	0,0
Фарш	1150	94,3	5,7	220	91,7	8,3	—	70	20	8,3	—	9,2	93,8	6,2	—	29,9	94,2	5,8
Отработанная уксусная кислота	—	—	—	—	—	—	—	1590	30	12,5	—	—	—	—	—	9,5	30,0	—
Первая промывная вода	—	—	—	—	—	—	20,9	1440	10	4,0	20,5	—	—	—	—	2,7	8,5	44,8
Вторая + третья промывная вода	—	—	—	—	—	—	—	2250	10	4,0	—	—	—	—	—	2,0	6,3	—
Масса, обработанная уксусной кислотой	390	32,1	67,9	170	70,8	29,2	8,3	—	—	—	—	4,6	46,9	53,1	—	18,9	60,5	39,5
Обезжиренная масса	190	15,6	84,4	150	62,5	37,5	—	—	—	—	—	0,8	8,1	91,9	38,8	16,5	52,0	48,0
Летучие азотистые вещества при щелочной обработке	—	—	—	—	—	—	—	—	0,001	0,6	—	—	—	—	—	—	—	—
Отстой щелочного раствора белка	—	—	—	—	—	—	20,8	20	0,01	4,1	8,8	0,04	0,4	0,9	—	6,0	18,9	54,5
Нерастворимый остаток	—	—	—	—	—	—	—	20	0,01	4,1	—	0,05	0,5	—	—	11,3	35,6	—
Готовый препарат	140	11,3	88,7	110	41,7	58,3	—	—	—	—	—	0,14	1,4	98,6	—	15,2	47,9	52,1

При последующей обработке щелочью вначале масса сильно набухает и приобретает желеобразный вид. Постепенно масса начинает разжижаться, и через 2 с лишним часа получается вязкий темнокоричневый раствор; не растворяются кости, хрящи, плавники и т. п. Из раствора при отстаивании выпадает темный хлопьевидный осадок. Раствор нейтрализуют уксусной кислотой до слабощелочной реакции (рН 7,2—7,5) и высушивают.

Химический состав готового белкового препарата отличается от состава обезжиренной массы меньшим содержанием азотистых веществ и большим содержанием золы (табл. 1). Как правило, содержание азотистых веществ в готовом препарате не превышает 76—77% (при влажности 9—10%) для свежего сырья и 60—65% для соленого сырья. Зольность препарата из свежего сырья составляет 10—12%, из соленого — достигает 23%. Содержание жира в готовом белковом препарате не превышает десятих долей процента.

Выход препарата в наших опытах составил 11,3% (табл. 3). Потери азотистых веществ в процессе щелочной обработки и сушки составляли 20,8%, потери жировых веществ — 6,7% и потери минеральных веществ с отходами — 54,5% от исходного содержания их в сырье. Всего в процессе получения белкового препарата потеряно 58,8% азотистых веществ и удалено 98,5% жировых веществ.

Определенная часть потерь азотистых веществ является необходимой, так как получается вследствие удаления волокнистых белков кожи, костей, хрящей и т. д. Из 20,5% азотистых веществ, удаляемых с отработанной уксусной кислотой и промывными водами, примерно, половину составляют глютины. Теряемые в процессе щелочной обработки 8,8% азотистых веществ тоже в основном относятся к соединительнотканным. Таким образом, потеря балластных веществ составляет около 19%, т. е. больше $\frac{1}{3}$ всей потери азотистых веществ.

Минеральных веществ в готовом препарате обнаружено 47,9% (от содержания в сырье), несмотря на удаление большого количества их с отработанной уксусной кислотой и отходами щелочной обработки. Это объясняется тем, что в процессе щелочной обработки мы неизбежно вводим определенное количество минеральных веществ в виде натриевой щелочи.

Действие щелочей на белки при нагревании, как известно, вызывает гидролитическое расщепление последних. Глубина щелочного гидролиза зависит от концентрации щелочи, температуры и длительности процесса. В нашем случае, при действии слабого раствора щелочи, невысокой температуре и малой длительности реакции, нельзя ожидать глубокого гидролитического процесса.

Для установления глубины гидролиза мы проводили количественное определение продуктов белкового распада.

Для определения количества летучих азотистых оснований, выделяющихся при щелочной обработке, последняя проводилась в герметически закрытом сосуде, в который через ртутный затвор вставлялась мешалка. Через сосуд с помощью водоструйного насоса просасывался воздух, пропускаемый через 50%-ную серную кислоту. Улавливание летучих азотистых оснований производилось в приемник с 2%-ным раствором борной кислоты. Определение показало, что при щелочной обработке около 0,9% азота обезжиренной массы выделяется в виде летучих азотистых оснований. Это составляет 0,6% азота сырья.

Нами определялась также степень накопления других продуктов белкового распада — аминокислот и полипептидов в течение всего процесса получения белкового препарата. Определение содержания аминокислот и полипептидов производилось по известному методу водно-спиртового титрования [1] в сырье, обезжиренной массе, в щелочном

растворе белка и в готовом препарате. При исследовании сырья и обезжиренной массы определение производилось в водной вытяжке.

Для определения степени накопления аминокислот и полипептидов в процессе щелочной обработки последняя в одном случае прекращалась через полтора часа от начала опыта, а в другом случае доводилась до конца. Щелочной раствор нейтрализовали уксусной кислотой в присутствии тимолфталена и переносили в мерную колбу. После доведения объема дистиллированной водой до метки отбиралась аликвотная часть для водно-спиртового титрования. Для определения продуктов распада белков в готовом препарате последний растворяли в воде.

Результаты указанных выше определений приведены в табл. 4.

Таблица 4

**Характеристика глубины распада белков трески в процессе получения
белкового препарата**

Объект исследования	Азот аминокис- лот в % от общего азота в навеске	Азот полипепти- дов в % от общего азота в навеске	Азот аминокис- лот + азот полипептидов (в %)	Отношение азота аминокис- лот к азоту полипептидов
Сырье—свежемороже- ная треска без го- лов, потрошенная .		не обнаружено		
Масса после уксусно- кислой обработки, обезжиренная . . .		не обнаружено		
То же, после обработ- ки щелочью в те- чение 1,5 часа . .	0,07	1,79	1,86	0,039
То же, после обработ- ки щелочью в те- чение 3 часов	0,44	1,98	2,42	0,22
Готовый препарат . .	2,64	3,30	5,94	0,83

Из данных табл. 4 видно, что аминокислоты и полипептиды отсутствуют в исходном сырье и в обезжиренной массе.

Анализ раствора при щелочной обработке показал, что через полтора часа после начала операции появляется некоторое количество продуктов распада, соответствующее 1,86% азота от исходного содержания в массе перед щелочной обработкой.

При этом отношение количества азота аминокислот к количеству азота полипептидов равно 0,039. К концу щелочной обработки общее количество продуктов распада практически остается таким же, но отношение азота аминокислот к азоту полипептидов составляет уже 0,22, т. е. происходит процесс распада полипептидов. Сравнительно небольшое количество продуктов распада белков указывает на то, что в процессе щелочной обработки происходит весьма незначительный гидролиз исходных белков.

Следует отметить, что в готовом препарате количество азота продуктов распада составляет уже 5,94% при соотношении количества аминокислот к полипептидам 0,3. Это указывает на то, что при продолжительном выдерживании щелочного раствора до нейтрализации (с целью отстояния) протекают дополнительные гидролитические процессы.

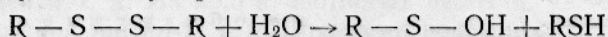
Суммируя сказанное выше, мы можем охарактеризовать процесс щелочной обработки следующим образом.

На обработку щелочью поступает масса, из которой при действии уксусной кислоты и спирта удалена большая часть балластных веществ (жировых и минеральных) и значительная часть соединительнотканых белков. Последние подвергались легкому кислотному гидролизу и частью перешли в раствор.

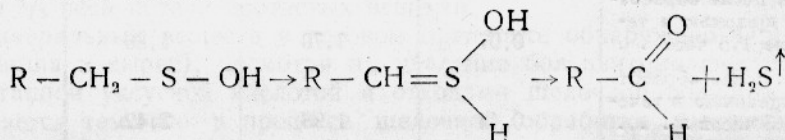
В дальнейшем, под действием разбавленного раствора щелочи, белки трески претерпевают некоторые изменения. Условия обработки и характер реакции (выделение сероводорода и аммиака), а также свойства готового препарата заставляют предполагать, что при щелочной обработке в основном происходит образование щелочных альбуминатов. Последние представляют собой продукты легкого гидролиза белков под действием щелочи, сопровождающегося выделением аммиака и сероводорода.

Известно, что щелочные альбуминаты не растворимы в воде, но растворимы в слабых щелочных растворах, выпадают в осадок при нейтрализации и подкислении, не свертываются при кипячении их растворов и дают положительную реакцию на сульфгидрильные группы с плюмбитом [2, 3]. Свойства белкового препарата полностью совпадают с перечисленными выше свойствами щелочных альбуминатов, за исключением того, что препарат обладает очень слабой реакцией на сульфгидрильные группы. Последнее обстоятельство мы объясняем следующим образом.

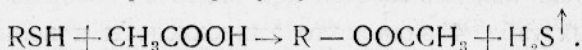
В содержащих серу аминокислотах под действием относительно разбавленного раствора щелочи в условиях нашего опыта протекает частичный гидролиз дисульфидных мостиков по схеме:



Часть образовавшихся продуктов, а именно сульфоновых кислот, как очень неустойчивых, разлагается уже в процессе щелочной обработки белковой массы:



Другая же часть образовавшихся продуктов разлагается при нейтрализации щелочного раствора уксусной кислотой:



Выделение сероводорода при нейтрализации мы уже отмечали.

Приведенные выше реакции объясняют, по нашему мнению, слабую реакцию готового препарата при определении сульфгидрильных групп.

Помимо основного процесса, образования щелочных альбуминатов, при щелочной обработке происходят и другие явления. В частности, происходит гидролиз остатков коллагеновых тканей, не растворившихся при уксуснокислой обработке. Как известно, в тканях рыб присутствуют кроме коллагенов и другие соединительнотканые белки типа кератина и эластина. Эти белки более устойчивы к воздействию слабых растворов кислот и щелочей и поэтому должны изменяться в принятом технологическом процессе в меньшей степени, чем коллагены. Остатки этих белков и образуют, повидимому, хлопьевидный осадок в щелочном растворе (так называемый отстой). Полнота удаления нерастворившихся остатков соединительнотканых белков обеспечивает отсутствие нерастворимой части в готовом препарате.

Следует отметить, что растворимость готового препарата находится в зависимости от pH раствора и будет максимальной при pH 7,2—7,5. Поскольку нейтрализация проводится именно до этого предела, в препарате сохраняется необходимая щелочность, обуславливающая его растворимость.

То, что в процессе щелочной обработки образуется незначительное количество продуктов белкового распада и гидролиз протекает в небольшой степени, дает основание считать, что при получении белкового препарата сохраняются основные пищевые свойства белков сырья. Это подтверждается результатами анализа аминокислотного состава белкового препарата, выполненного Институтом питания Академии медицинских наук СССР.

Потери азотистых веществ при щелочной обработке являются неизбежными. Однако они могут быть сокращены в известной степени за счет ликвидации процесса длительного отстаивания щелочного раствора до нейтрализации, поскольку в этом случае возможен дополнительный гидролиз с образованием летучих азотистых оснований. Отстаивание может с успехом заменено центрифугированием.

Дальнейшая работа по изучению и усовершенствованию процесса получения белкового препарата из трески должна быть направлена, по нашему мнению, на уменьшение потерь полноценных азотистых веществ и увеличение выхода готового препарата.

В заключение скажем несколько слов об отходах производства.

Мы не видим пока возможности использования обработанной уксусной кислоты и промывных вод, поскольку они представляют собой очень большие объемы сильно разведенных белковых растворов с большим содержанием минеральных веществ. Наоборот, отходы щелочной обработки могут быть с успехом использованы в качестве подкормок для сельскохозяйственных животных.

В отстое щелочного раствора содержится около 65% азотистых веществ и около 30% минеральных, представляющих собой в основном фосфорнокальциевые соли.

Анализ нерастворившегося остатка после щелочной обработки показал следующий его состав:

влажность	4,1%
минеральные вещества	78,9%
в том числе $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	73,2%
органические вещества	17%
в том числе азотистые вещества	3,4%
жировые вещества	0,6%

Мы передали этот продукт для испытания во Всесоюзный научно-исследовательский институт животноводства и получили заключение, что вполне возможно его применение в качестве минеральной подкормки всех видов сельскохозяйственных животных и птиц.

Выводы

1. В процессе обработки трескового сырья уксусной кислотой происходит растворение основной части коллагеновых белков. В раствор также переходит небольшая часть растворимых белков и около половины минеральных и жировых веществ сырья. Переход коллагеновых белков в раствор в виде глютинов является необходимым, так как вызывает ослабление связей внутри и между волокнами тканей трески. Это обеспечивает успешное и одновременное воздействие щелочи на все элементы ткани в последующем процессе щелочной обработки.

2. При щелочной обработке происходит частичный гидролиз основной массы белков сырья и образование щелочных альбуминатов белков, переходящих в готовый препарат.

Помимо образования щелочных альбуминатов протекает ряд других, побочных процессов, в том числе и растворение остатков коллагеновых белков.

3. Волокнистые белки типа кератина и эластина в основном сохраняются как в процессе уксуснокислой, так и в процессе щелочной обработки, и находятся в нерастворившемся остатке и отстое щелочного раствора. Полнота удаления нерастворившихся частей волокнистых белков обуславливает хорошую растворимость готового белкового препарата.

4. Для снижения потерь азотистых веществ при уксуснокислой обработке, а также для удаления нерастворившихся веществ при щелочной обработке белковой массы необходимо применять центрифугирование, что и должно быть осуществлено при получении белкового препарата в производственных условиях.

ИСПОЛЬЗОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. Дроздов Н. С., Практическое руководство по биохимии мяса, Пищепромиздат, М., 1950.
2. Смородинцев И. А., Адова А. Н., Практикум по биологической химии, Снабтехиздат, М.—Л., 1934.
3. Смородинцев И. А., Общая биохимия, Снабтехиздат, М.—Л., 1934.