

УДК 664.951.014:543.664.974.5

ИССЛЕДОВАНИЕ ФЕРМЕНТАТИВНОГО ГИДРОЛИЗА МЯСА КАШАЛОТА С ЦЕЛЬЮ ПОЛУЧЕНИЯ ПИЩЕВОЙ СМЕСИ АМИНОКИСЛОТ

Н. И. Попов, К. А. Мрочков

Ферментативный гидролиз был исследован на мясе антарктического зубатого кита кашалота, в последние годы — основного объекта китобойного промысла. В туше кашалота-самца относительная масса мяса, являющегося дешевым сырьем, составляет в среднем 17,4%, или около 5,4 т. Оно содержит большое количество азотистых веществ, но из-за наличия непищевых липидов и пигментов не используется в настоящее время в нашей стране на пищевые цели.

Предполагалось, что разработанная для данного сырья технология ферментативного процесса окажется пригодной для гидролиза других белковых морепродуктов. При исследовании были использованы бактериальные ферментные препараты промышленного производства (прототерризин, протосубтилин и рапидаза) и перспективные для производства из группы актиномицетов (римопротелин, протелин, актиномицет «771» и протофрадин). Эталонном гидролизующей способности ферментных препаратов служила проназа фирмы «Calbiochem» (США). Использовано шесть протеолитических ферментных препаратов микробиологического синтеза отечественного производства и два импортных.

При разработке гидролиза мяса кашалота основное внимание уделяли глубине расщепления белковых веществ и биохимическому составу гидролизатов. Определяли минимальные концентрации, позволяющие достичь максимальной глубины гидролиза белков.

При гидролизе сопоставляли соотношение аминокислотного состава гидролизатов и исходного сырья и сохранность витаминов.

Мороженое мясо кашалота хранили до исследования при температуре минус 18°C в течение 12 мес. и более. В экспериментах использовали фарш, полученный на мясорубке с диаметром отверстий решетки 2—3 мм.

Белки мяса кашалота гидролизовали в термостате типа «ТС-80» при температуре 37° с толуолом в качестве консерванта (Витт и др., 1975). Для прекращения протеолиза опытные смеси прогревали на кипящей водяной бане 5 мин или добавляли трихлоруксусную кислоту до конечной концентрации 5%. Содержание общего и небелкового азота (НБА) в фильтрате определяли по Кьельдалю (микро- и макрометодами) с окончанием — ацидиметрическим титрованием с индикатором Таширо (Королева, Мешкова, 1972); в холостом опыте наряду с реактивами вводили поправку на азот фермента и буферного раствора. Глубину гидролиза белков контролировали по аминному азоту рН-метрическим методом (Хлебникова, 1972) и по количеству свободных аминокислот и пептидов хроматографией их медных комплексов на ДЭАЭ-целлюлозе по Томмелю (Tommel et al., 1968). Среднее число

аминокислотных остатков в пептидах (среднюю длину пептидов) во фракциях, полученных при хроматографии медных комплексов, по Томмелю, устанавливали по интенсивности реакции их с нингидрином до и после гидролиза по методу Мура и Стейна (Moore, Stein, 1954). Общий аминокислотный состав белков мяса кашалота и ферментативных гидролизатов определяли на автоматическом анализаторе аминокислот модели ААА-8881 «Микротехна Прага». Мясо подготавливали к гидролизу методом Вуда (Wood, 1958), а гидролиз проводили 6н HCl (трижды перегнанной в стекле и обработанной над SnCl_2 в течение 24 ч при температуре $110 \pm 1^\circ$ в вакуумированных ампулах с предварительным трехкратным замораживанием и размораживанием в атмосфере азота). Гидролизат многократно упаривали на ротаторном испарителе при температуре 45° для удаления HCl.

Триптофан определяли спектрофотометрическим методом по Опиенска-Блаут (Opienska-Blauth et al., 1963) в модификации Делби (Dalby et al., 1975).

Содержание витаминов B_1 , B_2 , B_6 и фолиевой кислоты определяли флуорометрическим, а РР — спектрофотометрическими методами при 440 нм с родан-бромидным раствором, минеральных элементов — методом эмиссионного спектрального анализа на дифракционном спектрографе — ДФС-13 (Крайнова, 1968), фосфор — по ГОСТ 1725—71 (Рыба, рыбопродукты..., 1972), нуклеотиды — спектрофотометрическим методом (Спирин, 1958).

pH контролировали потенциометрическим методом на pH-метре модели «340». При определении pH-оптимумов использовали 0,05 М трис-HCl буфер (Королева, Мешкова, 1972).

Протеолитическую активность ферментных препаратов определяли стандартным методом (Каверзнева, 1971) на казеине и кашалотовом мясе в качестве субстратов. Оптическую плотность продуктов реакции тирозина с реактивом Фолина измеряли на спектрофотометре — «СФ-16» по максимуму поглощения при 670 нм.

Лиофильно высушенные и обезжиренные в аппарате Сокслета ферментативные гидролизаторы очищали последовательно на ионообменных смолах отечественного производства (макропористый анионит поликонденсационного типа ИА-1р в гидроксильной форме, сильнокислотный сульфокатионит КУ-2-8 в водородной форме). Оптимальные условия очистки устанавливали по выходу сухих веществ, количеству триптофана, содержанию нуклеиновых компонентов, а также цветности выделенных смесей аминокислот и пептидов, которую контролировали по абсорбционному нефелометру-колориметру «ЛМФ-69» при 450 нм. Наличие тяжелых металлов в выделенной смеси проверяли по ГФС СССР (1968).

Для получения достоверных данных исследования проводили в 3—5-кратной повторностях с обработкой результатов исследований методами математической статистики (Плохинский, 1970).

Предварительно в ферментных препаратах определяли протеолитическую активность (табл. 1), затем оптимальные pH-характеристики на данном субстрате, после чего — оптимальную концентрацию субстрата для достижения максимальной глубины гидролиза. В дальнейшем, исходя из pH-оптимумов и оптимальной концентрации субстрата, изучали кинетику гидролиза в течение от 1 до 48 ч и в некоторых случаях в течение 72 ч.

Самым активным препаратом оказался римопротелин. Прототеррин с самой низкой активностью при глубоком гидролизе не использовали.

Характеристика исследованных протеолитических ферментных препаратов (n=5)

Препарат	Активность, ед/г препарата		рН-оптимум	Продуцент
	казени	кашалотовое мясо		
Римопротелин	2180±58	118±6	7,0—7,2	Act. rimosus
Актиномицет «771»	1135±10	40±4	8,0—8,2	Act. «771»
Протелин	1010±6	63±5	7,6—7,8	Str. griseus
Проназа	1000±12	63±6	7,3—7,5	Str. griseus (США)
Протосубтилин	385±7	20±3	7,3—7,5	Bac. Subtilis
Протофрадин	230±9	28±3	8,3—8,5	Act. fradiae, 119
Рапидаза	100±5	12±1	7,3—7,5	Bac. Subtilis (Франция)
Протогерризин	47±3	1,8±0,2	7,3—7,5	Asp. terricola

На первом этапе исследований, при определении оптимальных условий гидролиза ферментных препаратов при различных значениях рН были приняты одинаковые условия: 1%-ные растворы ферментов, температура 40°, время инкубации 1 ч в ультратермостате модели «УТ-15» (рис. 1).

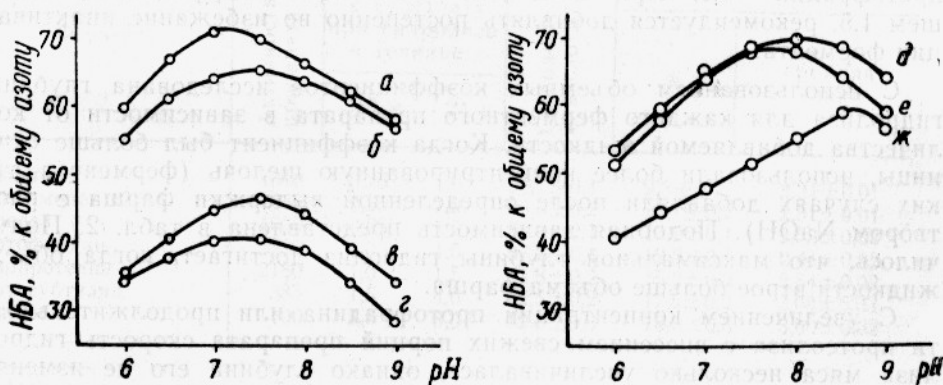


Рис. 1. Влияние величины рН на гидролиз белков мяса кашалота:

а — римопротелином; б — проназой; в — протосубтилином; г — рапидазой; д — актиномицетом «771»; е — протелином; ж — протофрадином

При определении рН-оптимумов и при исследовании процессов глубокого гидролиза белков мяса кашалота были получены зависимости изменения рН-среды по каждому ферменту при использовании буферного раствора определенного рН. Зависимость для актиномицета «771» представлена на рис. 2. Только при добавлении 20 объемов буферного раствора рН 8,5 достигается оптимальное значение рН среды (8,1) при исходном значении рН мяса кашалота, равном 5,95—6,00. Эта зависимость указывает на необходимость учета буферной емкости белков исследуемых объектов, что можно установить экспериментально для каждого случая.

Исследователи, занимающиеся гидролизом, предлагали различные количества добавляемой жидкости. Исследованиями гидролиза альбумина (Мосолов, 1955) было показано, что глубина гидролиза зависит от концентрации субстрата и максимальная концентрация не должна превышать 5%. В результате исследования гидролиза казеиновой

кильки (Лысова, 1971) рекомендовано добавлять 50% жидкости к массе килечного фарша, или 0,5 объема, что, по-видимому, недостаточно для оптимального протеолиза.

Использование буферных растворов не позволяет выявить влияния концентрации субстрата на глубину гидролиза, так как здесь за счет буферной емкости белков одновременно изменяется рН. Для этого нужно было исследовать изменение рН среды при добавлении к массе фарша различного количества (по объему) 0,1н NaOH. Были определены расчетные объемные

коэффициенты 0,1н NaOH для создания оптимальных зон рН для каждого ферментного препарата: проназа, римопротелин и протосубтилин — 0,95; рапидаза — 1,4; протелин — 1,85; актиномицет «771» — 2,3; протофрадин — 3,0. При этом 0,1н NaOH при коэффициенте, большем 1,5, рекомендуется добавлять постепенно во избежание инактивации фермента.

С использованием объемных коэффициентов исследована глубина гидролиза для каждого ферментного препарата в зависимости от количества добавляемой жидкости. Когда коэффициент был больше единицы, использовали более концентрированную щелочь (фермент в таких случаях добавляли после определенной выдержки фарша с раствором NaOH). Подобная зависимость представлена в табл. 2. Получилось, что максимальной глубины гидролиз достигает, когда объем жидкости вдвое больше объема фарша.

С увеличением концентрации протофрадина или продолжительности протеолиза с внесением свежих порций препарата скорость гидролиза мяса несколько увеличивалась, однако глубина его не изменялась (рис. 3). Это свидетельствует о том, что при данных условиях в субстрате были гидролизованы все пептидные связи и продолжать протеолиз нецелесообразно (рис. 3, кривая 2). При дозировке препарата менее 1% получать гидролизаты глубокого расщепления не удавалось.

Были исследованы и другие ферменты: после 24 ч было добавлено определенное количество фермента и по прошествии 48 ч, как и в случае с протофрадином, установлено отсутствие прироста аминокислот.

Для установления оптимальной концентрации фермента (в % к массе сырого мяса) исследовали протеолиз при дозировках различных ферментов от 0,25 до 8% с учетом их активности, который проводили от 1 до 48 ч. Минимальную концентрацию фермента для достижения возможной глубины протеолиза принимали за оптимальную.

Скорость и глубина гидролиза (по накоплению свободных аминокислот) зависят от концентрации и активности фермента (табл. 3).



Рис. 2. Изменение pH среды при гидролизе белков мяса кашалота под действием актиномицета «771» при различных соотношениях с субстратом (трис — HCl буфер, pH — 8,5)

Таблица 2

Зависимость глубины гидролиза белков мяса кашалота-протофрадином от концентрации субстрата (дозировка фермента 1%, протеолиз 48 ч при 37°)

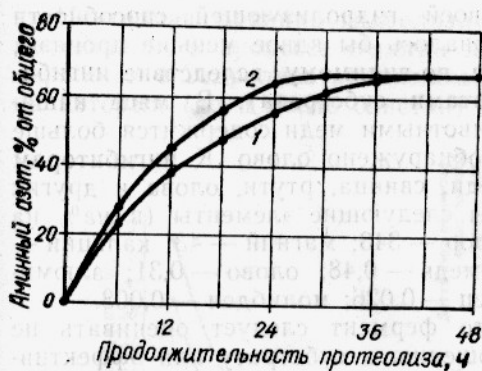


Рис. 3. Кинетика гидролиза белков мяса кашалота протофрадином при концентрации (в %): 1 — 1,0; 2 — 1,5.

Показатели

Объем жидкости, добавляемой к массе фарша, мл

Показатели	1	2	3	4	5	10	20
Концентрация белка, %	11	7	5	1	4	3	1
Глубина гидролиза (аминный азот, % от общего)	58	62	67	67	67	67	67

Так, для протелина при концентрации 0,25% максимальная глубина гидролиза достигается за 48 ч, а при концентрации 1% — за 24 ч. Увеличение продолжительности до 72 ч прироста аминного азота не давало.

Таблица 3

Эффективность исследованных протеолитических ферментных препаратов по гидролизу мяса кашалота при температуре 37° (n=5)

Фермент	Активность, ед/г препарата	Концентрация фермента, % к субстрату при гидролизе в течение		Свободные аминокислоты*, %	Пептиды*	
		48 ч	24 ч		%	средняя длина
Протелин	1010	0,25	1,0	90,7±0,1	9,3±0,1	2,31±0,01
Актиномицет «771»	1135	0,25	1,0	89,3±0,2	10,7±0,2	2,51±0,01
Проназа	1000	0,25	1,0	87,0±0,1	13,0±0,1	2,53±0,02
Протофрадин	230	1,0	1,5	87,2±0,1	12,8±0,1	2,41±0,02
Римопротелин	2180	1,0	1,5	84,8±0,2	15,2±0,2	2,54±0,02
Протосубтилин	385	1,5	4,0	82,5±0,2	17,5±0,2	3,00±0,03
Рапидаза	100	3,5	8,0	82,0±0,3	18,0±0,3	3,00±0,02

* Хроматография на ДЭАЭ-целлюлозе.

Приняв за оптимальные концентрации ферментов при продолжительности гидролиза 48 ч, можно вывести их условные коэффициенты эффективности с учетом активности: протофрадин — 230; проназа — 250; протелин — 252; актиномицет «771» — 284; рапидаза — 350; протосубтилин — 575; римопротелин — 2180. Например, протелин при концентрации 0,25% и активности 1010 ед/г имеет коэффициент $0,25 \times 1010 = 252$.

Ферментные препараты протелин, актиномицет «771» и протофрадин, близкие по коэффициентам к проназе, дают большую глубину гидролиза данного субстрата по сравнению с проназой (см. табл. 3).

Остальные ферментные препараты позволяют также получить значительную глубину гидролиза. Исключение составляет римопротелин, который, хотя и показал наивысшую активность на мясе кашалота

(118 ед/г), однако не проявил своей гидролизующей способности (при активности 2180 ед/г его требовалось бы вдвое меньше проназы, а фактически пошло в 8 раз больше, по-видимому, вследствие ингибирования его минеральными элементами субстрата). В мясе кашалота по сравнению с наземными животными меди содержится больше в 8 раз, железа почти в 4 раза и обнаружено олово. К ингибиторам многих ферментов относят ионы меди, свинца, ртути, олова и других металлов. В мясе кашалота найдены следующие элементы (в мг % на сырое вещество): калий — 555; фосфор — 343; магний — 43; кальций — 15,3; железо — 11,7; цинк — 3,2; медь — 0,48; олово — 0,31; алюминий — 0,05; кобальт — 0,028; марганец — 0,026; молибден — 0,008.

Таким образом, установлено, что фермент следует оценивать не только по активности, но и по отношению к субстрату или эффективностью гидролиза.

Ферменты, продуцируемые актиномицетами (протелин, актиномидет «771», проназа и протофрадин), обеспечивают большую глубину гидролиза белков мяса кашалота (см. табл. 3), чем ферменты, продуцируемые бактериями (протосубтилин и рапидаза). Известно (Фениксова, 1973), что протеолитическая система у бактерий слабее, чем у актиномицетов.

Мясо кашалота богато водорастворимыми витаминами, особенно фолиевой кислотой, — ее в 5 раз больше, чем в мясе крупного рогатого скота (табл. 4). Отмечено, что при ферментативном гидролизе витамины полностью сохраняются.

Таблица 4

Содержание витаминов в мясе кашалота, крупного рогатого скота и полученных гидролизатах (в мг % на сырое вещество)

Витамины	Кашалот	Гидролизаты	Крупный рогатый скот*
B ₁	0,32—0,44	0,28—0,44	0,1—0,9
B ₂	0,07—0,23	0,05—0,26	0,15—0,25
B ₆	0,14—0,29	0,09—0,33	0,3—0,6
PP	3,6—4,0	3,6—4,2	4—6
Фолиевая кислота	0,55—0,71	0,48—0,68	0,1

* Данные Огороковой и Еремена, 1973.

Гидролизаты могут служить микробиологическими средами без предварительной очистки и при меньшей глубине гидролиза.

Завершались работы очисткой ферментативных гидролизатов на ионообменных смолах. Исследовано влияние рН ферментативных гидролизатов белков мяса кашалота и промывки смол на выход аминокислот и пептидов, на изменение цветности, содержания триптофана и нуклеиновых компонентов.

Установлено, что ионообменная очистка ферментативного гидролизата белков мяса кашалота пропусканием гидролизата через последовательно соединенные колонки с ионитом ИА-1р и скатионитом Ку-2-8 пригодна для получения аминокислотных смесей с максимальным содержанием эссенциальных аминокислот, в том числе триптофана, и позволяет удалять сопутствующие примеси.

С увеличением рН исходного гидролизата и количества промывных вод увеличивается выход аминокислотной смеси, в том числе триптофана (рис. 4). Выход аминокислотной смеси и содержание в ней нуклеиновых компонентов в зависимости от рН проходит минимум, соответствующий рН 6 (рис. 5).

Пептидная фракция гидролизата, полученного при гидролизе мяса протелином, в процессе очистки не изменяется, что указывает на содержание в гидролизатах низкомолекулярных пептидов, средняя длина которых (до и после очистки) $2,3 \pm 0,01$ (табл. 3 и 5).

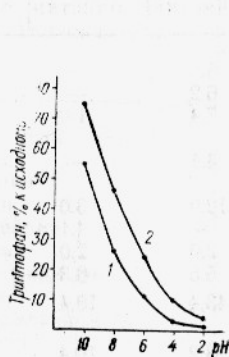


Рис. 4

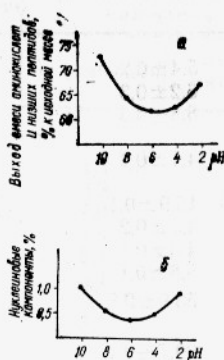


Рис. 5

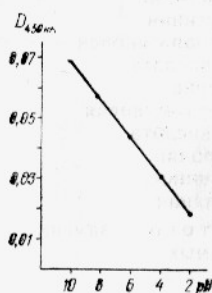


Рис. 6

Рис. 4. Влияние величины pH и количества дистиллированной воды на выход триптофана при промывке смолы ИА-1р: 1 — один объем воды (40 мл, 4 V:1 V смолы); 2 — два объема воды (80 мл, 8 V:1 V смолы).

Рис. 5. Влияние величины pH на выход смеси аминокислот и низших пептидов (а) и на содержание нуклеиновых компонентов в выделенной смеси аминокислот и низших пептидов (б) при очистке гидролизата кашалотового мяса.

Рис. 6. Влияние величины pH при очистке гидролизата кашалотового мяса на цветность выделенной смеси аминокислот и низших пептидов.

Цветность выделенной смеси с изменением pH почти не меняется (рис. 6). Максимально обесцвечивается гидролизат при pH, близком к 2, но при максимальной потере триптофана. Если цветность 0,05%-ных растворов исходного ферментативного гидролизата составляла 0,48, то цветность 1%-ных растворов выделенной смеси — всего 0,027—0,07, т. е. цветность гидролизата уменьшается в 140 раз.

Таблица 5

Аминокислотный состав мяса кашалота и гидролизата, полученного при гидролизе мяса протелином, % к белку (протеолиз 48 ч при 37°, дозировка фермента 0,25%)

Аминокислоты	Исходное сырье	Аминокислоты			
		свободные *		пептидов **	
		до очистки	после очистки	до очистки	после очистки
Триптофан	$1,1 \pm 0,05$	1,1	0,8	—	—
Лизин	$12,6 \pm 0,2$	12,5	12,5	—	—
Треонин	$4,3 \pm 0,2$	4,3	4,3	—	—
Валин	$4,1 \pm 0,1$	4,2	4,2	—	—
Изолейцин	$4,1 \pm 0,1$	4,1	4,1	—	—
Лейцин	$8,9 \pm 0,2$	8,9	8,9	—	—
Метионин	$2,2 \pm 0,1$	2,3	2,3	—	—
Цистин	$1,3 \pm 0,1$	1,4	1,4	—	—
Итого серосодержащих	$3,5 \pm 0,1$	3,7	3,7	—	—
Фенилаланин	$4,1 \pm 0,3$	4,1	3,7	—	—
Тирозин	$3,1 \pm 0,1$	3,1	2,6	—	—
Итого ароматических	$7,2 \pm 0,3$	7,2	6,3	—	—
Итого незаменимых	$45,8 \pm 0,7$	46,0	44,8	—	—

Аминокислоты	Исходное сырье	Аминокислоты			
		свободные*		пептидов**	
		до очистки	после очистки	до очистки	после очистки
Гистидин	$5,4 \pm 0,2$	5,4	5,3	—	—
Аргинин	$6,2 \pm 0,3$	6,2	6,2	—	—
Аспарагиновая кислота	$8,4 \pm 0,3$	7,4	7,4	1,0	1,0
Серин	$4,1 \pm 0,2$	4,1	4,1	—	—
Глутаминовая кислота	$15,9 \pm 0,1$	12,9	12,9	3,0	3,0
Пролин	$4,1 \pm 0,2$	—	—	4,1	4,1
Глицин	$4,0 \pm 0,1$	2,0	2,0	2,0	2,0
Аланин	$5,8 \pm 0,1$	5,5	5,5	0,3	0,3
Итого замени- мых	$53,9 \pm 0,8$	43,5	43,4	10,4	10,4
Всего	$99,7 \pm 0,1$	89,5	88,2	10,4	10,4

* Цистин не учитывали.

** Определены после гидролиза пептидов HCl.

Установлены оптимальные условия выделения аминокислотной смеси из ферментативных гидролизатов белков мяса кашалота: доведение pH получаемого гидролизата до 10 и нанесение 10 мл 1%-ного гидролизата (0,1 г) на 10 мл смолы ИА-1р и 30 мл смолы КУ-2-8. Далее следует промывка ИА-1р семью объемами (80 мл) воды с последующей промывкой смолы КУ-2-8 200 мл воды. Десорбцию аминокислот и пептидов со смолы КУ-2-8 производят 1%-ным раствором аммиака (150 мл, проба элюата по нингидрину). Собирают две фракции аминокислот, первую до значения $pH < 4$ и вторую со значением $pH > 4$. Каждую фракцию упаривают отдельно, а потом объединяют и высушивают на вакуум-распылительной сушилке.

При оптимальных условиях сорбции потери ароматических аминокислот в процессе очистки незначительны: триптофана — 27,3, тирозина 16,1 и фенилаланина — 9,8% от исходных количеств в гидролизате или суммарно около 1% общего количества аминокислот. Потеря аминокислот при гидролизе не наблюдалось (см. табл. 5).

По соотношению эссенциальных аминокислот смесь аминокислот из гидролизатов мяса кашалота (табл. 6) отвечает уровню мировых стандартов на средства парентерального питания, например, аминокислот, и может быть рекомендована как для пищевых, так и медицинских целей.

Таким образом, выделение смеси аминокислот и пептидов из ферментативных гидролизатов белков мяса кашалота с помощью ионообменных смол отечественного производства типа ИА-1р и КУ-2-8 дает высокий выход аминокислот с низким содержанием сопутствующих примесей: нуклеиновых компонентов менее 1%, минеральных элементов менее 1% с отсутствием тяжелых металлов, а содержание свободных аминокислот не менее 88,2% при содержании низших пептидов — 10,4%.

Разработана технология получения пищевой смеси аминокислот и низших пептидов, апробированная на стендовой установке лаборатории технологии ИНЭОС АН СССР. Результаты проверки полностью подтвердили предложенные оптимальные условия гидролиза и выделения смеси аминокислот и низших пептидов.

Соотношение эссенциальных аминокислот в гидролизате мяса кашалота и средствах парентерального питания

Аминокислота	Рекомендуемые пропорции FAO/WHO (1973)	Гидролизат мяса кашалота		Аминопептид (СССР)	Аминосол (США)
		до очистки	после очистки		
Триптофан	1	1	1	1	1
Лизин	5,5	11,3	15,6	4,8	7,8
Треонин	4,0	3,9	5,4	2,2	3,8
Валин	5,0	4,0	5,5	4,4	6,7
Изолейцин	4,0	3,8	5,2	0,8	5,0
Лейцин	7,0	8,2	11,2	5,6	8,8
Метионин + цистин *	3,5	3,4	4,6	1,3	4,2
Фенилаланин + тирозин *	6,0	6,5	7,8	3,3	5,8
Итого	36,0	42,1	56,3	23,4	43,1

* Цистин и тирозин отнесены к эссенциальным аминокислотам согласно рекомендациям Комитета FAO/ВОЗ (1973).

Выход смеси аминокислот составляет 17—19% к массе мяса, а потери — всего 1% ароматических аминокислот от исходного аминокислотного состава. Липиды в выделенной смеси существующими стандартными методами не обнаружены.

Предлагаемая технология производства высокопитательной смеси аминокислот и низших пептидов чрезвычайно проста и не требует специальной аппаратуры, гидролиз может быть осуществлен на любом современном биохимическом заводе.

ВЫВОДЫ

1. Изучен ферментативный гидролиз белков мяса кашалота под действием семи различных протеолитических ферментных препаратов: протелина, актиномицета «771», протофрадина, римопротелина, протосубтилина, рапидазы и проназы (в качестве стандарта) для выявления возможности применения их для получения белковых гидролизатов.

2. Установлено влияние pH среды на глубину гидролиза белков мяса кашалота. Для исследованных ферментов обнаружены следующие оптимальные зоны pH: римопротелин — 7,0—7,2; протосубтилин и рапидаза — 7,3—7,5; протелин — 7,6—7,8; актиномицет «771» — 8,0—8,2; протофрадин — 8,3—8,5.

3. Из всех исследованных ферментов наибольшая глубина расщепления белковых веществ мяса кашалота при температуре 37° характерна для протелина, актиномицета «771» и проназы (при концентрациях 0,25%) и протофрадина (при 1% концентрации). Доказана возможность использования и других менее активных ферментных препаратов за счет увеличения их концентрации от 1,5% (протосубтилин) до 3,5% (рапидаза).

4. Установлена зависимость глубины гидролиза от концентрации субстрата (максимальная концентрация не должна превышать 5% по белку). Оптимальное соотношение субстрата и добавляемой жидкости 1:3.

5. При установленных оптимальных режимах гидролиза глубина расщепления белков мяса кашалота (по накоплению свободных аминокислот) при температуре 37° в течение 48 ч составляет в зависимости от используемых ферментных препаратов в пределах от 82 (рапидаза) до 90,7% (протелин) и соответственно по содержанию пептидов от 18 до 9,3. При этом пептиды гидролизатов содержат в среднем от 3 до 2,31 аминокислотных остатков. В пептидах остаются связанными частично глутаминовая кислота, глицин, аспарагиновая кислота, аланин и полностью пролин.

6. Разработан метод выделения пищевой смеси аминокислот и низших пептидов из ферментативных гидролизатов белков мяса кашалота с помощью ионообменных смол ИА-1р и КУ-2-8, который дает высокий выход аминокислот с низким содержанием примесей: нуклеиновых компонентов менее 1%, минеральных элементов менее 1% с отсутствием тяжелых металлов. Цветность уменьшается в процессе очистки в 140 раз.

7. Аминокислоты при ферментативном гидролизе полностью сохраняются. При оптимальных условиях очистки на ионообменных смолах наблюдаются незначительные потери ароматических аминокислот (триптофан, тирозин, фенилаланин) около 1% общего количества аминокислот.

8. Разработана технология получения пищевой смеси аминокислот и низших пептидов из непищевого мяса зубатых китов, которая включает измельчение сырья, ферментацию при оптимальных условиях, обезжиривание на сепараторах и окончательную очистку с помощью ионообменных смол ферментативного гидролизата.

Технология получения пищевой смеси аминокислот апробирована на стендовой установке в лаборатории технологии ИНЭОС АН СССР. Выход сухой смеси аминокислот и пептидов составляет 17—19% массы перерабатываемого мяса.

9. Ферментативные гидролизаты белков мяса кашалота, содержащие все эссенциальные аминокислоты, водорастворимые витамины: В₁, В₂, В₆, РР и фолиевую кислоту, большое число минеральных элементов (калий, фосфор, магний, кальций, железо, медь, цинк, марганец, кобальт и др.) могут быть использованы в качестве питательных сред для микробиологической промышленности при меньшей глубине гидролиза и без очистки гидролизатов.

10. Выделенная смесь аминокислот и низших пептидов, содержащая все эссенциальные аминокислоты, отвечает мировым стандартам на аминокислотные препараты и может быть рекомендована не только для пищевых, но и для медицинских целей и получения L-аминокислот.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

Аминокислотный состав автолизатов и гидролизатов пекарских дрожжей и некоторых промышленных аминокислотных смесей.— «Прикл. биохим. и микробиол.», 1975, т. XI, вып. 3, с. 418—421. Авт.: С. В. Витт, М. Б. Сапоровская, Е. А. Пасконова, С. Б. Никитина, В. К. Садовская; В. М. Беликов.

Государственная фармакопея (ГФС) СССР, 10-е изд. М., «Медицина», 1968, с. 752—753.

Каверзнева Е. Д. Стандартный метод определения протеолитической активности для комплексных препаратов протеаз.— «Прикл. биохим. и микробиол.», 1971, т. VII, вып. 2, с. 225—228.

Королева Е. И., Мешкова Н. П. Практическое руководство к занятиям по биохимии животных. М., Изд-во МГУ, 1972, 90 с.

Крайнова Л. С. Определение макро- и микроэлементов в мышцах рыб.— «Известия вузов СССР. Пищевая технология», 1968, № 5, с. 173—176.

Лысова А. С. Исследование процесса ферментации каспийской кильки с целью получения пищевого белкового концентрата. Автореферат диссертации на соиск. уч. степ. канд. техн. наук. Калининград, 1971.

Методика техникохимического исследования рыбы и беспозвоночных. М., ВНИРО, 1967, с. 47—63.

Методы определения витаминов. Под ред. В. А. Девятнина. М., Пищепромиздат, 1954, с. 30—50.

Мосолов В. В. О закономерностях кинетики ферментативного гидролиза глобулярных белков. Автореф. дисс. на соискание уч. степ. канд. биол. наук. М., 1955, с. 366.

Осорокова Ю. И., Еремин Ю. Н. Гигиена питания. М., «Медицина», 1973, с. 366.

Плохинский Н. А. Биометрия. М., Изд-во МГУ, 1970, 367 с.

Рыба, рыбопродукты и вспомогательные материалы. М., Изд-во стандартов, 1972, с. 341—343.

Спирин А. С. Спектрофотометрическое определение суммарного количества нуклеиновых кислот.— «Биохимия», 1958, т. 23, вып. 5, с. 656—662.

Фениксова Р. В. Биосинтез ферментов микроорганизмами. В. Кн.: Ферменты микроорганизмов. М., 1973, с. 7—25.

Хлебникова И. М. pH-метрический метод определения аминного азота.— «Лабораторное дело», 1972, № 7, с. 443.

Dalby, A., Chia-Yin Tsa⁴. Acetic anhydride requirement in the colorimetric determination of tryptophan. Anal. Biochem., 1975, v. 63, N 1, pp. 283—285.

FAO/WHO Ad Hoc Expert Committee on Energy and Protein Requirements, 1973, Rep. 522.

Moore St., W. H. Stein. A modified ninhydrin reagent for the photometric determination of amino acids and related compounds. J. Biol. Chem., 1954, v. 211, pp. 907—914.

Opienska-Bleuth I., Charezynski M., Berbec H. A new rapid method of determining tryptophan. Anal. Biochem. 1963, v. 6, N 1, pp. 69—76.

Tommel, D. H. I., Vliegenthart I. F. G., Penders T. I., Aren S. I. F. A method for the separation of peptides and α -amino acids. Biochem. J., 1968, v. 107, N 3, p. 335—340.

Wood, I. D. Biochemical studies on sockeye salmon during spawning migration. The non-protein nitrogenous constituents of the muscle. Can. J. Biochem. Physiol., 1958, v. 36, N 8, pp. 833—838.

INVESTIGATIONS OF ENZYMATIC HYDROLYSIS OF PROTEINS FROM THE FLESH OF SPERM WHALES AIMED AT PRODUCING EDIBLE AMINO ACID MIXTURES

Popov N. I., Mrochkov K. A.

Summary

The optimum conditions for enzymatic hydrolysis of proteins from the flesh of sperm whales with seven proteolytic enzymatic preparations obtained by microbiological synthesis are ascertained. A possibility of obtaining hydrolyzates with high proteolytic activities is demonstrated.

The method of isolating edible amino acid mixtures and lower peptides from the enzymatic hydrolyzates of proteins from the sperm whale flesh with application of ion-exchange resins which provide a high yield of amino acids with a low admixture content (less than 1% of nucleic components, less than 1% of mineral elements without heavy metals whereas the content of free amino acids is not less than 88.2% and that of lower peptides is 10.4%), is described.

The isolated mixture of edible amino acids and peptides containing all essential amino acids corresponds to the world standards and may be recommended not only for human consumption but also for medical use and production of L-amino acids.

**ЗАМЕЧЕННЫЕ ОПЕЧАТКИ К ТОМУ ТРУДОВ ВНИРО
«ТЕХНОЛОГИЯ РЫБНЫХ ПРОДУКТОВ»**

Страница	Строка	Напечатано	Следует читать
5	20 сверху	проводятся	приводятся
8	8 снизу	дексе	декса
10	Табл. 3, боковик 3 снизу	Стеарины	Стерины
21	4 сверху	архидоно-	арахидоно-
63	2 снизу	пресноводные рыбы	пресноводная рыба
82	9 и 8 снизу	скатионитом КУ-2-8	с катионитом КУ-2 8
85	Табл. 6, 2-я колонка в головке	ГАО	ГАО

Зак. 255
Тир. 600