

УДК 664.959.5

Оценка пищевой ценности сублимированных гидролизатов, полученных из кожи рыб

В. С. Казакова*, Е. С. Землякова

*Калининградский государственный технический университет, г. Калининград, Россия;

e-mail: viktoriya.kazakova@klgtu.ru

Информация о статье

Реферат

Поступила в редакцию 08.04.2024;

получена после доработки 16.05.2024;

принята к публикации 11.06.2024

Ключевые слова:

кожа рыб, коллагеновые белки, высушенные добавки, ферментализ, аминокислоты, пептиды

Белковые гидролизаты имеют широкий спектр применения в пищевой промышленности. Добавки, полученные методом ферментализации коллагенсодержащих вторичных рыбных отходов (кожи рыб), подвергались сублимационному высушиванию. В сублимированных протеиновых добавках установлено содержание белка: 95,4/100 г (в гидролизатах из кожи минтая); 94,8 (из кожи трески); 92,5 г/100 г (из кожи судака). Аминокислотный состав добавок включает глицин, пролин, валин, лизин, аргинин. Сравнение аминокислотного состава с эталонным белком демонстрирует высокую степень удовлетворения суточной потребности в аминокислотах. Коэффициент утилитарности аминокислотного состава свидетельствует о сбалансированности аминокислот, определяющей биологическую ценность добавок из кожи минтая (88,67 %), трески (86,65), судака (79,68 %). Протеиновые добавки содержат низкомолекулярные пептиды, обладающие биологически активными свойствами. Оценка показателя безвредности проведена с использованием простейших организмов: рост, размножение и отсутствие гибели клеток инфузории *Tetrachymena pyriformis* свидетельствуют о безвредности и высокой биологической ценности белка протеиновых добавок. Полученные пищевые добавки предложено использовать в производстве продуктов спортивного питания.

Для цитирования

Казакова В. С. и др. Оценка пищевой ценности сублимированных гидролизатов, полученных из кожи рыб. Вестник МГТУ. 2024. Т. 27, № 3. С. 316–327. DOI: <https://doi.org/10.21443/1560-9278-2024-27-3-316-327>.

Evaluation of the nutritional value of freeze-dried hydrolysates obtained from fish skin

Victoria S. Kazakova*, Evgenia S. Zemlyakova

*Kaliningrad State Technical University, Kaliningrad, Russia;

e-mail: viktoriya.kazakova@klgtu.ru

Article info

Received 08.04.2024;

received in revised 16.05.2024;

accepted 11.06.2024

Key words:

fish skin, collagen proteins, dried supplements, enzymolysis, amino acids, peptides

Abstract

Protein hydrolysates have a wide range of applications in the food industry. The additives obtained by enzymolysis of collagen-containing secondary fish waste (fish skin) have been freeze-dried. The following protein content is established in freeze-dried protein additives: 95.4/100 g (in pollock skin hydrolysates); 94.8 (cod skin); 92.5 g/100 g (pike-perch skin). The amino acid composition of the additives includes glycine, proline, valine, lysine, and arginine. Comparison of the amino acid composition with the reference protein demonstrates a high degree of satisfaction of the daily requirement for amino acids. The utility coefficient of the amino acid composition indicates a balance of amino acids, which determines the biological value of additives from pollock skin (88.67 %), cod (86.65 %), and pike-perch (79.68 %). Protein additives contain low-molecular peptides with biologically active properties. The assessment of the harmlessness index has been carried out using the simplest organisms: growth, reproduction and absence of death of the cells of the *Tetrachymena pyriformis* ciliate indicate the harmlessness and high biological value of the protein of protein supplements. The obtained food supplements are proposed to be used in the production of sports nutrition products.

For citation

Kazakova, V. S. et al. 2024. Evaluation of the nutritional value of freeze-dried hydrolysates obtained from fish skin. *Vestnik of MSTU*, 27(3), pp. 316–327. (In Russ.) DOI: <https://doi.org/10.21443/1560-9278-2024-27-3-316-327>.

Введение

Спортивное питание должно включать пищевые продукты с высокой биологической ценностью, способствующие восполнению запасов макро- и микроэлементов, улучшению общего состояния организма, повышению эффективности тренировок и быстрому восстановлению после физических нагрузок (*Гаврилова и др., 2017*). Спортсменам требуется большое количество высококачественного белка в рационе, поддерживающего метаболизм мышц и костей, укрепляющего нервную систему, участвующего в формировании мышечной массы и обеспечивающего высокий уровень физической работоспособности (*Кулькова и др., 2022*). Лейцин, валин и изолейцин составляют группу аминокислот с разветвленной цепью (ВСАА); около 33 % скелетных мышц состоит из комбинации этих трех аминокислот. В отличие от других незаменимых аминокислот (НАК), ВСАА являются основным источником энергии, используемым во время тренировок. Данные аминокислоты (прежде всего лейцин) способствуют секреции инсулина, уменьшают утомляемость и болезненность мышц.

Исследования (*Авилова и др., 2015; Бастриков, 2009; Jäger et al., 2017*) доказывают, что потребность в белке для достижения спортивных результатов (особенно в процессе силовых тренировок) высока, однако углеводы в питании выступают как незаменимый источник энергии. Углеводы поступают из гликогена, хранящегося в мышцах, а также из глюкозы в кровотоке, и являются предпочтительным субстратом во время высокоинтенсивных упражнений и работы на выносливость.

Спортивное питание – один из наиболее быстрорастущих сегментов рынка пищевых добавок и функциональных продуктов питания (*Николаева и др., 2019*). Для людей, ведущих активный образ жизни или профессионально занимающихся спортом, перспективными направлениями являются создание обогащенных продуктов, повышение содержания белков и углеводов, добавление пищевых волокон и витаминов.

Сывороточный протеин используется как сырье в технологиях продуктов спортивного питания (*Коротелева и др., 2020*) и представляет собой высококачественный белок с высоким содержанием незаменимых аминокислот. Однако рост населения планеты в сочетании с растущей ограниченностью ресурсов привел к необходимости поиска альтернативных источников белка. В качестве такого альтернативного источника в спортивном питании может выступать гидролизат вторичного рыбного сырья, а именно покровных тканей рыб (*Казакова и др., 2024а*). Сырье (кожа рыб), получаемое при переработке рыб на филе, вызывает интерес с экономической точки зрения, поскольку считается дешевым побочным продуктом, и с точки зрения достижения высоких спортивных результатов, так как содержит незаменимые аминокислоты. Кроме того, коллагеновые белки продемонстрировали ряд важных биологических свойств, таких как антиоксидантная, противораковая, противодиабетическая, кардиопротекторная активность и др. (*Антипова и др., 2016; Duan et al., 2009; Bao et al., 2018*). Перечисленные преимущества делают коллагеновые протеиновые гидролизаты перспективным сырьем для использования в технологиях продуктов спортивного питания.

Исследования процесса производства гидролизатов рыбного белка показывают, что свойства гидролизатов зависят от гидролитического процесса и условий реакции, а также от используемых субстратов и ферментов (*Цибизова и др., 2009*). Ферментативный гидролиз применяется в качестве основного метода переработки кожи рыб (трески, судака, минтая) в ценные продукты спортивного питания. Этот метод позволяет создавать протеиновые добавки, обеспечивающие питательные и физико-химические свойства, превосходящие свойства исходного белка. Ферментативный гидролиз – лучший способ гидролизовать кожу без потери пищевой ценности, поскольку процесс гидролиза не оставляет в продуктах остаточных органических растворителей или токсичных химикатов.

Процесс ферментативного гидролиза для получения добавок из кожи рыб, проведенного специалистами кафедры пищевой биотехнологии Калининградского государственного технического университета, включал подготовку сырья, выбор фермента, оптимизацию параметров гидролиза, гидролиз, определение степени процесса ферментативного гидролиза, инактивирование ферментов. Для ферментативного гидролиза использовались коммерческие ферментные препараты протеолитического действия. Концентрация фермента, pH, время и температура тщательно контролировались и поддерживались на протяжении всего процесса гидролиза. Наиболее действенным для используемого субстрата определен фермент российского производства "Протозим" (бактериальная протеаза), который применялся в количестве 2,5 % к массе сырья; время гидролиза составило 3,5 ч.

Гидролизаты рыбной кожи содержат пептиды из 2–20 аминокислотных последовательностей, обладающих биологической активностью (*Баженов и др., 2023*). Например, среди естественных альтернатив антигипертензивных препаратов значительным интересом пользуются биоактивные пептиды для профилактики гипертонии и лечения начальной стадии гипертонии (*Huang et al., 2013*). Ультрафильтрация гидролизатов позволила получить фракции молекулярной массой менее 3 кДа с ингибирующей активностью ангиотензин-превращающего фермента (АПФ). Рыбная кожа является богатым источником желатина и коллагена. Желатин включает значительное количество гидрофобных аминокислот, таких как глицин, валин, аланин, пролин и гидроксипролин, и потенциально может иметь в составе ряд пептидов с мощной ингибирующей активностью в отношении перекисного окисления липидов (*Alemán et al., 2011; Чернуха и др., 2013*). Рыбы живут в среде, содержащей большое количество сапрофитных и патогенных микробов, т. е. находятся в постоянном прямом

контакте с потенциальными патогенами. Кожа рыб действует как физический барьер, обеспечивая немедленную защиту от окружающей среды, а также как химический барьер благодаря врожденным иммунным факторам – антимикробным пептидам с низкой молекулярной массой, которые имеют суммарный положительный заряд и являются амфифильными (Abuine et al., 2019).

Материалы и методы

Эксперименты проводили в лаборатории кафедры пищевой биотехнологии Калининградского государственного технического университета (КГТУ), а также в лаборатории Атлантического филиала Всероссийского научно-исследовательского института рыбного хозяйства и океанографии (АтлантНИРО). Получение протеиновых добавок (ПД) из вторичного рыбного сырья осуществляли с применением ферментализа протеолитическим ферментом российского производства "Протозим" (бактериальная протеаза). В качестве сырья использовали кожу:

- трески *Gadus morhua callarias*, добываемой преимущественно в акватории Балтийского моря;
- судака *Sander lucioperca*, вылавливаемого в водах Вислинского (Калининградского) и Куршского заливов;
- минтая *Gadus chalcogrammus*, перерабатываемого в производственном комплексе компании "Атлантис", располагающейся на территории Калининградской области.

Подготовленное сырье после очистки и промывки тщательно измельчали, смешивали с водой в соотношении 1 : 3 (до полного покрытия кожи) и нагревали до температуры 60 °С. В систему добавляли фермент "Протозим" – сухой ферментный препарат, оптимальный рабочий температурный диапазон которого составляет 55–65 °С (рН = 6,0–10,0). Фермент добавляли в количестве 2,5 % к массе сырья, рН среды = 6,5–7,5 (естественный уровень рН смеси – измельченной кожи с водой). Оптимальное время гидролиза составляло 3,5 ч. Данные параметры установлены в ходе ряда лабораторных испытаний. Для определения оптимальных дозировок фермента проводили гидролиз, используя шесть различных дозировок ферментного препарата. На основе литературных данных выбраны дозировки: 0,5; 0,1; 1,5; 2; 2,5; 3 % фермента к массе сырья. Гидромуль составлял 1 : 3 (до полного покрытия кожи). Предварительная подготовка кожи включала операции: мойку, удаление чешуи и прирезей мяса, промывание, измельчение. Смесь помещали в колбу, подогревали и вносили ферментный препарат. Продолжительность ферментализа составляла 10 ч при постоянном перемешивании. Степень эффективности выбранной дозировки и оптимальное время ферментации оценивали по накоплению формольнотитруемого азота. Дополнительные операции для поддержания рН смеси не проводились. Контроль рН на протяжении 10 ч гидролиза показал, что рН не поднималось выше 7,5, что не выходило за оптимальный диапазон работы фермента. По окончании процесса гидролиза смесь прогревали при температуре 90 °С в течение 5 мин с целью инактивации фермента. Далее полученную суспензию центрифугировали и разделяли на фракции. Плотную фракцию сушили конвекционным способом при температуре 60 °С (до массовой доли воды не более 8 %) и измельчали до порошкообразного состояния (размер частиц не более 0,05 мм). Данная белково-минеральная добавка (БМД) получила название "Минерал+" и рекомендуется для обогащения традиционных пищевых продуктов кальцием и фосфором. Жидкую фракцию подвергали лиофилизации при отрицательной температуре –55 °С на сублимационной установке Martin Christ Alpha1-2 LDplus и измельчали до порошкообразного состояния (размер частиц не более 0,02 мм) (Казакова и др., 2024б). Выбор данного способа обезвоживания позволяет максимально сохранить природу водорастворимых продуктов ферментализа (низкомолекулярных пептидов, гликозамингликанов, аминокислот и т. д.). Полученная протеиновая добавка "Пептидо+" рекомендуется для обогащения традиционных пищевых продуктов низкомолекулярными пептидами и легкоусвояемыми аминокислотами.

Исследования показателей качества полученных ПД проводились с помощью стандартных и общепринятых аналитических и физико-химических методов анализа. Статистическую обработку экспериментальных данных осуществляли методом регрессионного анализа с использованием пакетов прикладных программ Microsoft Office (Microsoft Excel 2010) при 95%-м доверительном уровне; исключение составили данные табл. 3, выполненные в лаборатории АтлантНИРО.

Общий химический состав полученных добавок проводили по ГОСТ 7636-85¹, массовую долю белка определяли арбитражным методом Кьельдаля, влагу – методом высушивания до постоянной массы.

Для установления содержания аминокислот использовали систему капиллярного электрофореза "Капель-105М", снабженную немодифицированным кварцевым капилляром (внутренний диаметр 75 мкм, эффективная длина 50 см, общая длина 60 см), источником напряжения переменной полярности и УФ-детектором.

¹ ГОСТ 7636-85. Межгосударственный стандарт. Рыба, морские млекопитающие, морские беспозвоночные и продукты их переработки. Методы анализа. Введен 01.01.1986. URL: <https://docs.cntd.ru/document/1200022224>.

Показатели биологической ценности полученных добавок определяли расчетным методом в соответствии с требованиями Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ): аминокислотный скор (АКС), коэффициент различия аминокислотных скоров (КРАС), биологическая ценность (БЦ), коэффициент утилитарности.

Молекулярный фракционный состав сублимированных гидролизатов устанавливали методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с использованием колонки Phenomenex. Метод включает разбавление и фильтрование пробы образцов, разделение на фракции и идентификацию средней молекулярной массы фракций с помощью прибора UV-Detektor (диаметр нанофильтра 214 нм).

Ускоренная биотис-оценка качества и безопасности пищевых продуктов из гидробионтов была выполнена методом биотестирования на инфузориях *Tetrahymena pyriformis*. Экспериментально исследовали возможную токсичность полученных добавок. Для исключения токсического действия ежедневно в раздавленной капле из контрольных и опытных проб под микроскопом оценивали движение, размеры, морфологические характеристики клеток инфузорий. Питательную ценность подтверждали посредством счета количества клеток инфузорий и определения продолжительности времени инкубации в сравнении с эталонным белком.

Результаты и обсуждение

Для обоснования использования сублимированных гидролизатов из вторичного коллагенсодержащего сырья в технологии производства продуктов спортивного питания необходимо изучить все характеристики полученных добавок. Первый этап исследований включает определение общего химического состава кожи рыб (табл. 1).

Таблица 1. Общий химический состав кожи рыб
 Table 1. General chemical composition of fish skin

Кожа	Химический состав, %			
	Белок	Влага	Липиды	Минеральные вещества
Вылов в сентябре 2022 г.				
трески	20,30	73,61	2,02	4,07
судака	26,85	58,60	3,11	11,44
минтая	25,02	70,84	2,23	1,91
Вылов в ноябре 2022 г.				
трески	19,04	75,05	3,15	2,76
судака	24,40	64,98	2,02	8,60
минтая	25,04	66,14	6,02	2,80
Вылов в апреле 2023 г.				
трески	22,61	67,41	2,63	7,35
судака	22,20	64,06	1,66	10,08
минтая	27,60	67,38	1,72	3,30
Вылов в июле 2023 г.				
трески	20,61	74,79	0,35	4,25
судака	18,40	64,98	2,02	14,60
минтая	24,04	73,14	1,02	1,80

Разница в химическом составе сырья – кожи разных рыб – не оказала существенного влияния на составы полученных гидролизатов. В конечных высушенных добавках получено высокое содержание белка. Коллагенсодержащее рыбное сырье отличается низким содержанием жира; после проведения гидролиза жировая фракция не требует отделения, остаются лишь ее следы. Гидролизат состоял из отфильтрованной водорастворимой фракции, содержащей в основном белки. Исходя из полученных данных общего химического состава (табл. 2), можно отметить, что количество белковых веществ находится в диапазоне от 92,5 % (в ПД из кожи судака) до 95,44 % (в ПД из кожи минтая).

Таблица 2. Общий химический состав полученных ПД
 Table 2. General chemical composition of the resulting protein supplement

Кожа	Химический состав ПД, %			
	Белок	Липиды	Влага	Зола
трески	94,80	0,04	3,60	1,56
судака	92,50	3,32	2,32	1,86
минтая	95,44	0,06	3,20	1,30

Количественное содержание аминокислот (АК) является важным показателем ценности полученного белка (табл. 3). Аминокислоты улучшают работоспособность, повышая секрецию анаболических гормонов,

предотвращая неблагоприятные последствия перетренированности и умственную усталость (Токаев, 2010). В настоящее время в ходе многих исследований доказан эргогенный эффект отдельных аминокислот, их различных комбинаций и некоторых специальных белковых пищевых добавок.

Таблица 3. Аминокислотный состав ПД, полученных из кожи рыб методом ферментативного гидролиза
Table 3. Amino acid of the protein supplement obtained from fish skin by enzymatic hydrolysis

Аминокислоты	Аминокислотный состав ПД из кожи, г/100 г белка					
	судака		минтая		трески	
	Результат	Погрешность	Результат	Погрешность	Результат	Погрешность
<i>незаменимые:</i>						
лейцин + изолейцин	4,6	1,2	5,6	1,5	5,3	1,4
валин	10,8	4,3	4,5	1,8	5,0	2,0
метионин	2,2	0,7	2,6	0,9	2,4	0,8
фенилаланин	2,6	0,8	2,5	0,8	2,4	0,7
лизин	5,1	1,7	5,5	1,9	5,1	1,7
треонин	3,5	1,4	3,4	1,4	3,1	1,2
<i>заменимые:</i>						
аланин	11,6	3,0	10,2	2,7	9,7	2,5
аргинин	8,0	3,2	8,5	3,4	7,4	2,9
глицин	45,6	11,8	75,9	19,7	26,1	6,8
гистидин	0,6	0,3	1,3	0,6	1,3	0,6
пролин	14,0	3,6	10,9	2,8	10,6	2,8
серин	5,3	1,4	7,2	1,9	6,7	1,8
тирозин	1,1	0,3	1,2	0,4	1,1	0,3

Гидролизаты содержат все аминокислоты, присутствующие в сырье, при этом преобладают глицин и пролин. В полученных из кожи рыб методом ферментативного гидролиза пищевых добавках основными по массе аминокислотами являются глицин, пролин, валин, лизин, аргинин. Данные АК необходимы для профилактики и поддержания опорно-двигательной системы в ходе физической активной деятельности.

Незаменимые аминокислоты – лейцин, изолейцин и валин (аминокислоты с разветвленной цепью, ВСАА) – играют решающую роль в процессе синтеза мышечного белка при построении и восстановлении мышечной ткани (Kim et al., 2013). Потребление незаменимых аминокислот помогает поддерживать рост мышц и ускоряет восстановление после напряженных тренировок.

Эргогенным эффектом обладает аминокислота аргинин, являющаяся субстратом для синтеза оксида азота – мощного эндогенного сосудорасширяющего средства, которое может улучшить кровоток и повысить выносливость. Тирозин ("предшественник" гормонов и нейромедиаторов, в частности адреналина, норадреналина и дофамина) обладает эргогенным действием (Стадник и др., 2018). Недостаточное количество этих гормонов может ограничить оптимальную физическую работоспособность.

Аминокислотный состав полученных ПД сравнивался со шкалой эталонного белка² (табл. 4).

Таблица 4. Сравнение аминокислотных составов эталонного белка и полученных ПД
Table 4. Comparison of amino acid composition and the obtained protein supplement

Аминокислота	Аминокислотный состав, г/100 г белка			
	Эталонный белок (ФАО/ВОЗ)	ПД из кожи		
		судака	минтая	трески
Изолейцин + лейцин	9,1	4,6	5,6	5,3
Лизин	4,8	5,1	5,5	5,1
Фенилаланин + тирозин	4,1	3,7	3,7	3,5
Треонин	2,5	3,5	3,4	3,1
Валин	4	10,8	4,5	5,0

Продовольственной и сельскохозяйственной организацией Объединенных Наций (ФАО) и Всемирной организацией здравоохранения (ВОЗ) разработана система оценки аминокислот и введен показатель биологической ценности пищевых белков – аминокислотный скор (АКС), рассчитываемый по каждой незаменимой аминокислоте (табл. 5).

² Dietary protein quality evaluation in human nutrition // FAO Food Nutr. Pap. 2011. Vol. 92. P. 1–66.

Таблица 5. Аминокислотный скор полученных ПД
 Table 5. Amino acid score of the resulting protein supplement

Аминокислота	АКС полученных ПД из кожи, %		
	судака	минтая	трески
Изолейцин+лейцин	54,62	64,51	61,40
Лизин	114,80	120,01	112,02
Фенилаланин + тирозин	97,56	94,63	84,10
Треонин	151,20	142,40	130,80
Валин	292,01	118,00	131,75

Также к наиболее важным показателям оценки биологической ценности белка относятся коэффициент различия аминокислотного сора, биологическая ценность, коэффициент утилитарности (табл. 6). Избыточное количество незаменимых аминокислот, не используемых на пластические нужды, характеризуется коэффициентом различия аминокислотных скоров. По величине коэффициента различия аминокислотных скоров оценивают биологическую ценность белоксодержащего продукта. Коэффициент утилитарности i -й незаменимой аминокислоты является численной характеристикой, отражающей сбалансированность незаменимых аминокислот по отношению к эталону (*Надточий и др., 2015*).

Всемирной организацией здравоохранения введен показатель биологической ценности пищевых белков – аминокислотный скор (АКС или С), рассчитываемый по каждой незаменимой аминокислоте (АКС_{*i*} или С_{*i*}):

$$\text{АКС} = \frac{A_i}{A_{si}} 100 \%,$$

где A_i – содержание незаменимой i -й аминокислоты в 1 г исследуемого белка, мг/г; A_{si} – содержание i -й аминокислоты в 1 г эталонного белка, мг/г; 100 – коэффициент пересчета в %.

Избыточное количество НАК, не используемых на пластические нужды, характеризуется коэффициентом различия аминокислотных скоров, %, определяемого следующим образом:

$$\text{КРАС} = \frac{\sum_{j=1}^n (C_i - 100)}{n},$$

где C_i – скор НАК, n – количество НАК.

По величине КРАС оценивают биологическую ценность, %, белоксодержащего продукта по формуле
 БЦ = 100 – КРАС.

Коэффициент утилитарности i -й НАК k_i является численной характеристикой, отражающей сбалансированность НАК по отношению к эталону:

$$k_i = \frac{C_{\min}}{C_i},$$

где C_{\min} – минимальный скор НАК оцениваемого белка по отношению к эталонному белку, доли ед.

Таблица 6. Показатели биологической ценности полученных ПД
 Table 6. Indicators of the biological value of the resulting protein supplement

Показатель	ПД из кожи		
	судака	минтая	трески
Коэффициент различия аминокислотного сора, %	20,32	11,33	13,35
Биологическая ценность, %	79,68	88,67	86,65
Коэффициент утилитарности аминокислотного состава, доли ед.	0,19	0,55	0,47

Анализ данных, представленных в табл. 5 и 6, демонстрирует высокую биологическую ценность добавок из кожи судака, минтая, трески. Разница показателей минимальна, но наибольшее значение имеет добавка из кожи минтая. Коэффициент утилитарности аминокислотного состава отражает высокую степень сбалансированности аминокислот.

На следующем этапе исследований на основе полученных знаний о биологической ценности ПД устанавливали фракционный состав протеинов. Биологическая активность пептидов определяется такими свойствами, как молекулярная масса, заряд и гидрофобность (*Karami at al., 2019*). Молекулярно-массовое распределение изучали методом гель-проникающей хроматографии. Гель-проникающая хроматография представляет собой хроматографический метод, который разделяет макромолекулы в зависимости от их размера в растворе. Для определения истинной молярной массы образца требуется калибровочная кривая, построенная с использованием стандартов, имеющих химическую структуру, идентичную структуре

анализируемого образца. Данный метод отличается простотой, надежностью и воспроизводимостью и является наиболее часто используемым для определения молярной массы макромолекул.

Доля низкомолекулярных белков (менее 10 кДа) в гидролизате из кожи трески составляет 75,93 %; самая большая фракция (1–5 кДа) – 36,35 % (рис. 1).

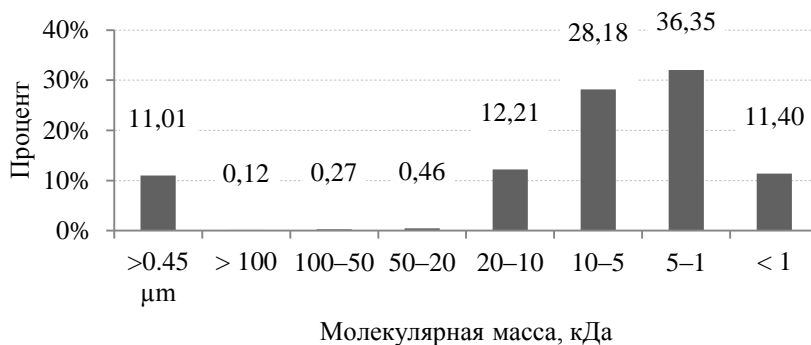


Рис. 1. Фракционный состав гидролизованных протеинов в гидролизате из кожи трески
Fig. 1. Fractional composition of hydrolyzed proteins in cod skin hydrolyzate

Доля низкомолекулярных белков (менее 10 кДа) в гидролизате из кожи судака составляет 82,42 %; самая большая фракция (1–5 кДа) – 37,59 % (рис. 2).

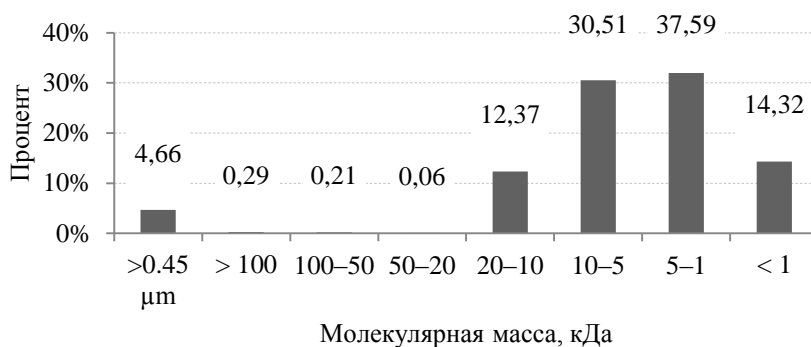


Рис. 2. Фракционный состав гидролизованных протеинов в гидролизате из кожи судака
Fig. 2. Fractional composition of hydrolyzed proteins in hydrolyzed pike perch skin

Доля низкомолекулярных белков (менее 10 кДа) в гидролизате из кожи минтая с учетом нерастворимой части составляет 76,19 %; самая большая фракция (1–5 кДа) – 32,51 % (рис. 3).

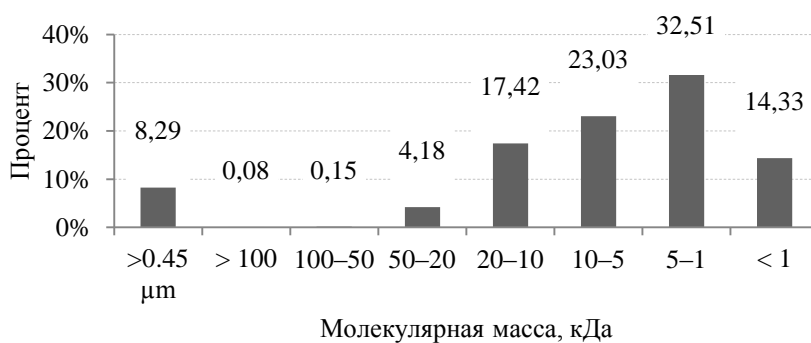


Рис. 3. Фракционный состав гидролизованных протеинов в гидролизате из кожи минтая
Fig. 3. Fractional composition of hydrolyzed proteins in pollock skin hydrolyzate

Анализ распределения молекулярной массы пептидов показал, что ПД в основном содержали пептиды молекулярной массой 1–5 кДа. Низкомолекулярные пептиды обладают биоактивными свойствами, повышающими их пищевую ценность (Мезенова и др., 2018). Кроме того, ПД содержали значительное

количество молекул молекулярной массой <1 кДа, представляющих собой небольшие дипептиды и свободные аминокислоты.

Для подтверждения возможности использования полученных добавок в продуктах спортивного назначения необходимо оценить показатель безвредности, используя достоверный биологический метод оценки. Простейшие – одноклеточные эукариотические организмы с животным поведением (подвижность и хищничество) (Пехов, 2012) – по способам передвижения делятся на жгутиконосцев, амебодных, споровиков и инфузорий. Инфузории *Tetrahymena* являются модельными организмами, используемыми для анализа возможного токсического действия добавок. Ресничное простейшее *Tetrahymena pyriformis* в течение многих лет применяется как модельная система в ходе биологических исследований (Zobkova et al., 2020).

Безвредность означает отсутствие в сырье или продуктах факторов, способствующих угнетению процессов жизнедеятельности и приводящих организм к заболеванию или гибели по различным причинам, кроме пищевой недостаточности. Безвредность – обратный эквивалент вредности, которая наглядно проявляется как отклонение от обычного, принимаемого за контроль и считающегося физиологической нормой состояния. В этой связи безвредность определяется по характеру и степени минимальной выраженности вредности (токсичности, токсигенности, аллергенности, мутагенности, тератогенности, канцерогенности и др.).

Сущность метода заключается в том, что для исключения возможного токсического действия ежедневно в раздавленной капле из контрольных и опытных проб под микроскопом оценивают движение, размеры, морфологические характеристики клеток инфузорий. По истечении периода инкубирования клетки инфузорий обездвиживают фиксирующим раствором и производят их подсчет.

В ходе эксперимента не наблюдалось угнетения подвижности и роста клеток; форма клеток инфузорий овальная, ровная; деформация клеточных стенок не обнаружена, что свидетельствует об отсутствии токсичного действия исследуемых ПД. Как для опытных, так и для контрольного образцов характерна активная подвижность инфузорий; гибели клеток не зафиксировано.

Одним из критериев качества продуктов является их питательная ценность, определяемая ростовой, массонакопительной и репродуктивной реакцией инфузории *Tetrahymena pyriformis* на использование ее организмом всех органических и неорганических компонентов исследуемого пищевого субстрата (Богдан и др., 2013). Показатель питательной ценности является интегральным показателем физиологического воздействия пищевого субстрата и может быть отождествлен с показателем биологической ценности, так как в большей степени отражает процессы репродукции организма.

При установлении питательной ценности в качестве эталона использовали контрольный продукт – казеин. Показатель питательной ценности определялся посредством сравнения числа клеток инфузорий, выросших на опытном продукте, и количества инфузорий, выросших на контрольном продукте (рис. 4).

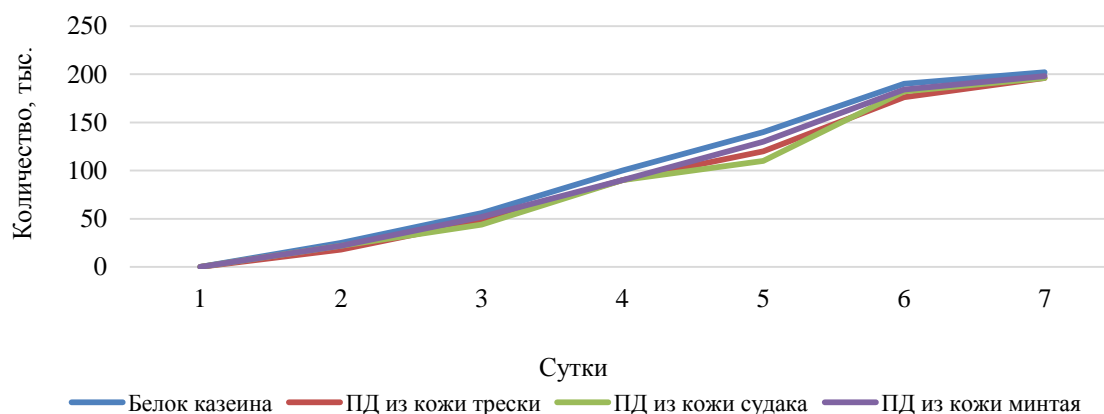


Рис. 4. Сравнение роста инфузорий на эталонном белке и протеиновых добавках
Fig. 4. Comparison of ciliate growth on reference protein and protein supplements

Динамика роста инфузорий в среде, содержащей ПД, и среде, содержащей казеинат натрия, имела схожие значения. Начало видимого активного роста было отмечено на 3-й день, пик роста был достигнут на 5-й день. Рост инфузорий на ПД приближен к росту на эталонном образце; данный результат свидетельствует о высокой относительной биологической ценности белка ПД.

Заключение

Максимальное использование вторичных продуктов рыбоперерабатывающих производств обеспечивает получение высокоценных продуктов питания и способствует улучшению экологической обстановки в России.

В ходе анализа общего химического состава кожи рыб, составляющей до 10 % от общего веса, обоснована перспективность использования кожи рыб в качестве сырья для получения ПД: количество белка составляет

18–28 %; содержание жира варьируется от 3 до 6 %, поэтому не применяются дополнительные стадии разделения фракций (в процессе гидролиза остаются лишь следы жира).

Оценка общего химического состава полученных ПД позволяет назвать добавки высокопротеиновыми, поскольку содержание белковых веществ находится в диапазоне от 92,5 (в ПД из кожи судака) до 95,44 % (в ПД из кожи минтая). Сравнение аминокислотного состава с эталонным белком по шкале ФАО/ВОЗ демонстрирует высокую степень удовлетворения суточной потребности в аминокислотах. Коэффициент утилитарности аминокислотного состава свидетельствует о сбалансированности аминокислот, определяющей биологическую ценность добавок из кожи судака, минтая, трески.

Фракционный состав ПД включает низкомолекулярные пептиды, обладающие различной фармакологической направленностью, необходимой спортсменам. В составе содержатся пептиды молекулярной массой 1–5 кДа и большое количество молекул <1 кДа, в основном представляющих собой небольшие дипептиды и свободные аминокислоты.

Биологическая оценка полученных образцов с использованием тест-объекта *Tetrahymena pyriformis* свидетельствует об отсутствии токсичного действия. Сравнение роста инфузорий на эталонном образце-казеине и образце с пищевыми добавками позволяет сделать вывод о высокой относительной биологической ценности белка ПД, поскольку динамика роста имеет схожие значения.

Полученные пищевые добавки используются в производстве продуктов спортивного питания. Белки и входящие в их состав аминокислоты составляют основу построения клеток и тканей организма. Спортсмены, употребляя продукты, обогащенные добавками из кожи рыб, могут оптимизировать процесс адаптации к физическим нагрузкам. Пищевые добавки из кожи рыб являются источником белков, обладают сбалансированным аминокислотным составом и положительно влияют на процесс всасывания в желудочно-кишечном тракте. Спортсменам рекомендуется применять обогащенные продукты для восстановления скелетных мышц и соединительных тканей после интенсивных тренировок; биоактивные пептиды в составе добавок являются стимуляторами работоспособности во время высокоинтенсивных и длительных тренировок.

Благодарности

Авторы благодарят сотрудников лаборатории Атлантического филиала ВНИРО за помощь в проведении анализа аминокислотного состава добавок, полученных из кожи рыб методом ферментативного гидролиза, директора Центра передовых технологий использования белков КГТУ В. В. Волкова и сотрудника Центра С. В. Агафонову – за помощь в определении фракционного состава гидролизованных протеинов в гидролизатах.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Библиографический список

- Авилова И. А., Котова О. В. Научные основы технологий производства питания для спортсменов // Физическая культура, спорт и здоровье в современном обществе : сб. науч. ст. всерос. очно-заочной науч.-практ. конф., Воронеж, 30 октября 2014 г. Воронеж : Научная книга, 2015. С. 314–317. EDN: TYATCP.
- Антипова Л. В., Сторублевцев С. А. Сравнительные свойства коллагеновых белков рыбного и животного происхождения // Вестник Воронежского государственного университета. Сер. Химия. Биология. Фармация. 2016. № 4. С. 37–41. EDN: XGRGWZ.
- Баженов Е. А., Байдалинова Л. С., Волков В. В., Grimm Т. Опыт получения пептидов с низкой молекулярной массой из различных видов вторичного рыбного сырья // Известия КГТУ. 2023. № 71. С. 84–101. DOI: <https://doi.org/10.46845/1997-3071-2023-71-84-101>. EDN: GTKTHP.
- Бастриков И. А. Медико-биологические аспекты создания и применения специализированных белково-углеводных продуктов питания для спортсменов // Вопросы питания. 2009. Т. 78, № 6. С. 78–82.
- Богдан А. С., Бондарук А. М., Цыганков В. Г. Методические подходы к оценке на *Tetrahymena pyriformis* биологической ценности и безвредности пищевой продукции // Здоровье и окружающая среда. 2013. № 22. С. 247–252. EDN: ZAUDSX.
- Гаврилова Н. Б., Щетинин М. П., Молибога Е. А. Современное состояние и перспективы развития производства специализированных продуктов для питания спортсменов // Вопросы питания. 2017. Т. 86, № 2. С. 100–106. EDN: YKKFAZ.
- Казакова В. С., Землякова Е. С. Исследования по комплексной переработке коллагенсодержащего рыбного сырья // Известия КГТУ. 2024а. № 72. С. 81–91. DOI: <https://doi.org/10.46845/1997-3071-2024-72-81-91>. EDN: NJLQIQ.
- Казакова В. С., Землякова Е. С. Исследования по ферментативному гидролизу покровных тканей судака // Вестник Международной академии холода. 2024б. № 1. С. 79–84. DOI: <https://doi.org/10.17586/1606-4313-2024-23-1-79-84>. EDN: FFYGFs.
- Коростелева М. М., Кобелькова И. В., Ханферьян Р. А. Нутритивная поддержка в спорте. Часть I. Роль макронутриентов в повышении выносливости спортсменов (обзор зарубежной литературы) // Спортивная

- медицина: наука и практика. 2020. Т. 10, № 3. С. 18–26. DOI: <https://doi.org/10.47529/2223-2524.2020.3.18>. EDN: PZUYJD.
- Кулькова В. С. Химия белков. Значение в организме человека и животных // Молодой исследователь: возможности и перспективы : сб. науч. ст. по материалам междунар. науч.-практ. конф., Ставрополь, 18–20 мая 2022 г. Ставрополь, 2022. С. 192–195. EDN: FSCQVJ.
- Мезенова О. Я., Волков В. В., Мерзель Т., Grimm Т. [и др.]. Сравнительная оценка способов гидролиза коллагенсодержащего рыбного сырья при получении пептидов и исследование их аминокислотной сбалансированности // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2018. Т. 8, № 4(27). С. 83–94. DOI: <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2018-8-4-83-94>.
- Надточий Л. А., Орлова О. Ю. Инновации в биотехнологии. Ч. 2. Пищевая комбинаторика. СПб.: Университет ИТМО, 2015. 37 с.
- Николаева М. А., Худяков М. С., Худякова О. Д. Состояние и перспективы развития рынка продуктов спортивного питания в России и за рубежом // Российский внешнеэкономический вестник. 2019. № 6. С. 65–78. EDN: VCEWYU.
- Пехов А. П. Биология: медицинская биология, генетика и паразитология. М. : ГЭОТАР-Медиа, 2012. 656 с.
- Стадник В. В., Арнтц Ф. Химия питания при занятиях физическими нагрузками // Физическая культура, спорт, здоровье и долголетие : сб. материалов междунар. науч. конф., Ростов-на-Дону, 6–8 сентября 2018 г. Ростов-на-Дону ; Таганрог : Изд-во Южного федерального университета, 2018. С. 76–84. EDN: OIZPTD.
- Токаев Э. С. Технология продуктов спортивного питания. М. : МГУПБ, 2010. 108 с.
- Цибизова М. Е., Мижуева С. А., Костюрина К. В. Критерии оптимизации биотехнологических процессов получения гидролизатов из гидробионтов // Известия высших учебных заведений. Пищевая технология. 2009. № 4(310). С. 74–77. EDN: KZMQYH.
- Чернуха И. М., Горбунова Н. А. Лечебно-профилактические свойства низкомолекулярных пептидов животного происхождения // Все о мясе. 2013. № 1. С. 36–38. EDN: PWCBEZ.
- Abuine R., Rathnayake A. U., Byun H.-G. Biological activity of peptides purified from fish skin hydrolysates // Fisheries and Aquatic Sciences. 2019. Vol. 22. Article number: 10. DOI: <https://doi.org/10.1186/s41240-019-0125-4>.
- Alemán A., Giménez B., Pérez-Santin E., Gómez-Guillén M. C. [et al.]. Contribution of Leu and Hyp residues to antioxidant and ACE-inhibitory activities of peptide sequences isolated from squid gelatin hydrolysate // Food Chemistry. 2011. Vol. 125, Iss. 2. P. 334–341. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.08.058>.
- Bao Z., Sun Y., Rai K., Peng X. [et al.]. The promising indicators of the thermal and mechanical properties of collagen from bass and tilapia: Synergistic effects of hydroxyproline and cysteine // Biomaterials Science. 2018. Vol. 6, Iss. 11. P. 3042–3052. DOI: <https://doi.org/10.1039/C8BM00675J>.
- Duan R., Zhang J., Du X., Yao X. [et al.]. Properties of collagen from skin, scale and bone of carp (*Cyprinus carpio*) // Food Chemistry. 2009. Vol. 112, Iss. 3. P. 702–706. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.06.020>.
- Huang W.-Y., Davidge S. T., Wu J. Bioactive natural constituents from food sources – potential use in hypertension prevention and treatment // Critical Reviews in Food Science and Nutrition. 2013. Vol. 53, Iss. 6. P. 615–630. DOI: <https://doi.org/10.1080/10408398.2010.550071>.
- Jäger R., Kerksick C. M., Campbell B. I., Cribb P. J. [et al.]. International society of sports nutrition position stand: Protein and exercise // Journal of the International Society of Sports Nutrition. 2017. Vol. 14, Iss. 1. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12970-017-0177-8>.
- Karami Z., Akbari-Adergani B. Bioactive food derived peptides: A review on correlation between structure of bioactive peptides and their functional properties // Journal of Food Science and Technology. 2019. Vol. 56. P. 535–547. DOI: <https://doi.org/10.1007/s13197-018-3549-4>.
- Kim D.-H., Kim S.-H., Jeong W.-S., Lee H.-Y. Effect of BCAA intake during endurance exercises on fatigue substances, muscle damage substances, and energy metabolism substances // Journal of Exercise Nutrition & Biochemistry. 2013. Vol. 17, Iss. 4. P. 169–180. DOI: <https://doi.org/10.5717/jenb.2013.17.4.1690>.
- Zobkova Z., Fursova T., Zenina D. The determination of the base matrix optimal composition with use of test organisms *Tetrahymena pyriformis* // News of the national academy of sciences of the Republic of Kazakhstan. Series of geology and technical sciences. 2020. Vol. 3. P. 142.

References

- Avilova, I. A., Kotova, O. V. 2015. Scientific basis of nutrition technologies for athletes. Coll. of scientific articles of the All-Russian full-time and part-time scient. and pract. conf. *Physical culture, sports and health in modern society*, Voronezh, 30 October, 2014. Voronezh, pp. 314–317. EDN: TYATCP. (In Russ.)
- Antipova, L. V., Storublevcev, S. A. 2016. Comparative properties of collagen proteins of fish and animal origin. *Proceedings of Voronezh State University. Series: Chemistry. Biology. Pharmacy*, 4, pp. 37–41. EDN: XGRGWZ. (In Russ.)

- Bazhenov, E. A., Bajdalinova, L. S., Volkov, V. V., Grimm, T. 2023. Experience in obtaining low molecular weight peptides from various types of secondary fish raw materials. *KSTU News*, 71, pp. 84–101. DOI: <https://doi.org/10.46845/1997-3071-2023-71-84-101>. EDN: GTKTHP. (In Russ.)
- Bastrikov, I. A. 2009. Medical and biological aspects of the creation and use of specialized protein-carbohydrate food products for athletes. *Problems of Nutrition*, 78(6), pp. 78–82. (In Russ.)
- Bogdan, A. S., Bondaruk, A. M., Cygankov, V. G. 2013. Methodological approaches to assessing the biological value and safety of food products for *Tetrahymena pyriformis*. *Zdorovie i Okruzhayushchaya Sreda*, 22, pp. 247–252. EDN: ZAUDSX. (In Russ.)
- Gavrilova, N. B., Shchetinin, M. P., Moliboga, E. A. 2017. Current state and prospects for the development of production of specialized products for nutrition of athletes. *Problems of Nutrition*, 86(2), pp. 100–106. EDN: YKKFAZ. (In Russ.)
- Kazakova, V. S., Zemlyakova, E. S. 2024a. Research on complex processing of collagen-containing fish raw materials. *KSTU News*, 72, pp. 81–91. DOI: <https://doi.org/10.46845/1997-3071-2024-72-81-91>. EDN: NJLQIQ. (In Russ.)
- Kazakova, V. S., Zemlyakova, E. S. 2024b. Research on enzymatic hydrolysis of the integumentary tissues of pike perch. *Vestnik Mezhdunarodnoy Akademii Kholoda*, 1, pp. 79–84. DOI: <https://doi.org/10.17586/1606-4313-2024-23-1-79-84>. EDN: FFYGFSS. (In Russ.)
- Korosteleva, M. M., Kobel'kova, I. V., Khanfer'yan, R. A. 2020. Nutritional support in sports: Part I. The role of macronutrients in increasing the endurance of athletes (review of foreign literature). *Sports Medicine: Research and Practice*, 10(3), pp. 18–26. DOI: <https://doi.org/10.47529/2223-2524.2020.3.18>. EDN: PZUYJD. (In Russ.)
- Kul'kova, V. S. 2022. Chemistry of proteins. Significance in humans and animals. Proceedings International scientific and practical conference, Stavropol', 18–20 May, 2022. Stavropol', pp. 192–195. EDN: FSCQVJ. (In Russ.)
- Mezenova, O. Ya., Volkov, V. V., Merzel, T., Grimm, T. et al. 2018. Comparative assessment of methods for hydrolysis of collagen-containing fish raw materials in the production of peptides and study of their amino acid balance. *Proceedings of Universities Applied Chemistry and Biotechnology*, 8(4(27)), pp. 83–94. DOI: <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2018-8-4-83-94>. (In Russ.)
- Nadochay, L. A., Orlova, O. Yu. 2015. Innovations in biotechnology. Part 2. Food combinatorics: Educational method. Saint-Petersburg. (In Russ.)
- Nikolaeva, M. A., Khudyakov, M. S., Khudyakova, O. D. 2019. State and prospects for the development of the sports nutrition products market in Russia and abroad. *Russian Foreign Economic Journal*, 6, pp. 65–78. EDN: VCEWYU. (In Russ.)
- Pekhov, A. P. 2012. Biology: Medical biology, genetics and parasitology. Moscow. (In Russ.)
- Stadnik, V. V., Armtc, F. 2018. Chemistry of nutrition during physical activity. Coll. of articles of Intern. Scient. Conf. *Physical culture, sports, health and longevity*, Rostov-on-Don, 6–8 September, 2018. Rostov-on-Don, pp. 76–84. EDN: OIZPTD. (In Russ.)
- Tokaev, E. S. 2010. Sports nutrition technology. Moscow. (In Russ.)
- Tcibizova, M. E., Mizhueva, S. A., Kostyurina, K. V. 2009. Criteria for optimization of biotechnological processes for obtaining hydrolysates from aquatic organisms. *Izvestiya VUZOV. Food Technology*, 4(310), pp. 74–77. EDN: KZMQYH. (In Russ.)
- Chernukha, I. M., Gorbunova, N. A. 2013. Therapeutic and prophylactic properties of low molecular weight peptides of animal origin. *Vsyo o Myase*, 1, pp. 36–38. EDN: PWCBEZ. (In Russ.)
- Abuine, R., Rathnayake, A. U., Byun, H.-G. 2019. Biological activity of peptides purified from fish skin hydrolysates. *Fisheries and Aquatic Sciences*, 22. Article number: 10. DOI: <https://doi.org/10.1186/s41240-019-0125-4>.
- Alemán, A., Giménez, B., Pérez-Santin, E., Gómez-Guillén, M. C. et al. 2011. Contribution of Leu and Hyp residues to antioxidant and ACE-inhibitory activities of peptide sequences isolated from squid gelatin hydrolysate. *Food Chemistry*, 125(2), pp. 334–341. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.08.058>.
- Bao, Z., Sun, Y., Rai, K., Peng, X. et al. 2018. The promising indicators of the thermal and mechanical properties of collagen from bass and tilapia: Synergistic effects of hydroxyproline and cysteine. *Biomaterials Science*, 6(11), pp. 3042–3052. DOI: <https://doi.org/10.1039/C8BM00675J>.
- Duan, R., Zhang, J., Du, X., Yao, X. et al. 2009. Properties of collagen from skin, scale and bone of carp (*Cyprinus carpio*). *Food Chemistry*, 112(3), pp. 702–706. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.06.020>.
- Huang, W.-Y., Davidge, S. T., Wu, J. 2013. Bioactive natural constituents from food sources – potential use in hypertension prevention and treatment. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 53(6), pp. 615–630. DOI: <https://doi.org/10.1080/10408398.2010.550071>.
- Jäger, R., Kerksick, C. M., Campbell, B. I., Cribb, P. J. et al. 2017. International society of sports nutrition position stand: Protein and exercise. *Journal of the International Society of Sports Nutrition*, 14(1). DOI: <https://doi.org/10.1186/s12970-017-0177-8>.

- Karami, Z., Akbari-Adergani, B. 2019. Bioactive food derived peptides: A review on correlation between structure of bioactive peptides and their functional properties. *Journal of Food Science and Technology*, 56, pp. 535–547. DOI: <https://doi.org/10.1007/s13197-018-3549-4>.
- Kim, D.-H., Kim, S.-H., Jeong, W.-S., Lee, H.-Y. 2013. Effect of BCAA intake during endurance exercises on fatigue substances, muscle damage substances, and energy metabolism substances. *Journal of Exercise Nutrition & Biochemistry*, 17(4), pp. 169–180. DOI: <https://doi.org/10.5717/jenb.2013.17.4.1690>.
- Zobkova, Z., Fursova, T., Zenina, D. 2020. The determination of the base matrix optimal composition with use of test organisms *Tetrahymena pyriformis*. *News of the national academy of sciences of the Republic of Kazakhstan. Series of geology and technical sciences*, 3, P. 142.

Сведения об авторах

Казакова Виктория Сергеевна – пр. Советский, 1, г. Калининград, Россия, 236022;
Калининградский государственный технический университет, аспирант;
e-mail: viktoriya.kazakova@klgtu.ru

Victoria S. Kazakova – 1 Sovetsky Ave., Kaliningrad, Russia, 236022;
Kaliningrad State Technical University, PhD Student; e-mail: viktoriya.kazakova@klgtu.ru

Землякова Евгения Сергеевна – пр. Советский, 1, г. Калининград, Россия, 236022;
Калининградский государственный технический университет, канд. техн. наук, доцент;
e-mail: evgeniya.zemljakova@klgtu.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0974-3914>

Evgenia S. Zemlyakova – 1 Sovetsky Ave., Kaliningrad, Russia, 236022;
Kaliningrad State Technical University, Cand. Sci. (Engineering), Associate Professor;
e-mail: evgeniya.zemljakova@klgtu.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0974-3914>