

УДК 664.959.5:597.555.51

Научное обоснование срока годности белкового рыбного гидролизата, полученного с использованием фермента протосубтилина Г3х

Ю. В. Живлянцева*, Л. К. Куранова

*Национальный центр безопасности рыбной и сельскохозяйственной продукции, г. Мурманск, Россия;
e-mail: youliapetrakova@mail.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4957-297X>

Информация о статье Реферат

Поступила
в редакцию
15.05.2025;

получена
после доработки
27.05.2025;

принята
к публикации
05.06.2025

Ключевые слова:

белковый рыбный
гидролизат,
вторичное рыбное
сырье,
питательные среды,
протосубтилин Г3х

Белковый рыбный гидролизат, полученный методом ферментативного гидролиза из вторичного рыбного сырья с использованием фермента протосубтилина Г3х, является белковой составляющей в альтернативных микробиологических питательных средах. Высушенная форма белкового рыбного гидролизата (БРГ) предпочтительнее по сравнению с жидкой из-за более длительного срока хранения, более удобного способа хранения и транспортировки. Срок годности питательной среды – одна из основных характеристик, на которую ориентируется покупатель продукции. Целью работы является научное обоснование срока годности БРГ, который будет использован в качестве основы для приготовления альтернативных питательных сред. Для проведения исследований применялись органолептические, микробиологические и физико-химические методы. Были подготовлены три партии опытных образцов БРГ, которые хранились в герметично упакованных банках в темном сухом месте при определенной температуре и влажности воздуха. Разработана схема исследования белкового рыбного гидролизата через определенный промежуток времени с учетом коэффициента резерва. Все партии БРГ прошли испытания в аккредитованных лабораториях. Содержание токсичных элементов в БРГ составило: свинца – менее 1,0 мг/кг, кадмия – менее 0,2 мг/кг, мышьяка – менее 5,0 мг/кг, ртути – 0,5 мг/кг. Сумма нитрозаминов (НДМА и НДЭА) составила менее 0,003 мг/кг, полихлорированных бифенилов – менее 2,0 мг/кг. Анализ пестицидов выявил наличие гексахлорциклогексана (альфа-, бета-, гамма-изомеров) в количествах менее 0,02 мг/кг, ДДТ и его метаболитов – менее 0,2 мг/кг. Содержание радионуклидов не превышало допустимой нормы: цезий-137 – $4,3 \pm 0,1$ Бк/кг, стронций-90 – $3,9 \pm 0,1$ Бк/кг. Микробиологическими исследованиями установлено отсутствие в массе продукта бактерий группы кишечных палочек, золотистого стафилококка, патогенных сальмонелл, а также показателей гнилостной порчи (протей, плесени, дрожжи). Результаты исследований продемонстрировали возможность хранения белкового рыбного гидролизата в течение 4-х лет.

Для цитирования

Живлянцева Ю. В. и др. Научное обоснование срока годности белкового рыбного гидролизата, полученного с использованием фермента протосубтилина Г3х. Вестник МГТУ. 2025. Т. 28, № 3. С. 342–347. DOI: <https://doi.org/10.21443/1560-9278-2025-28-3-342-347>.

Scientific justification of the shelf life of fish protein hydrolysate obtained using the enzyme protosubtilin G3x

Yuliia V. Zhivlyantseva*, Lyudmila K. Kuranova

*National Center for Fish and Agricultural Products Safety, Murmansk, Russia;
e-mail: youliapetrakova@mail.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4957-297X>

Article info

Received
15.05.2025;

received
in revised form
27.05.2025;

accepted
05.06.2025

Key words:

fish protein hydrolysate,
fish wastes,
recycle fish materials,
culture medium,
protosubtilin G3x

Abstract

Fish protein hydrolysate obtained by enzymatic hydrolysis from recycle fish materials using the enzyme protosubtilin G3x is a protein component in alternative microbiological culture media. The dried form of fish protein hydrolysate (FPH) is more preferable compared to the liquid one due to a longer shelf life, a more convenient method of storage and transportation. The shelf life of the culture medium is one of the main characteristics that the buyer of this product focuses on. The purpose of the work is to scientifically substantiate the shelf life of FPH, which will be used as a basis for the preparation of alternative culture media. Organoleptic, microbiological and physicochemical methods have been used to conduct the research. Three batches of experimental samples of FPH have been prepared and stored in hermetically sealed jars in a dark dry place at a certain temperature and humidity. A scheme for studying fish protein hydrolysate after a certain period of time has been developed taking into account the reserve factor. All batches of fish protein hydrolysate have been tested in accredited laboratories. The content of toxic elements in FPH is: lead – less than 1.0 mg/kg, cadmium – less than 0.2 mg/kg, arsenic – less than 5.0 mg/kg, mercury – 0.5 mg/kg. The sum of nitrosamines (NDMA and NDEA) is less than 0.003 mg/kg, polychlorinated biphenyls – less than 2.0 mg/kg. Pesticide analysis has revealed the presence of hexachlorocyclohexane (alpha-, beta-, gamma-isomers) in quantities of less than 0.02 mg/kg, DDT and its metabolites – less than 0.2 mg/kg. The radionuclides content does not exceed the permissible limit and is: cesium-137 – 4.3 ± 0.1 Bq/kg, strontium-90 – 3.9 ± 0.1 Bq/kg. Microbiological studies have established the absence of coliform bacteria, *Staphylococcus aureus*, pathogenic salmonella, as well as the absence of indicators of putrefactive spoilage (proteus, mold, yeast). The results of the studies have shown the possibility of storing fish protein hydrolysate for 4 years.

For citation

Zhivlyantseva, Yu. V. et al. 2025. Scientific justification of the shelf life of fish protein hydrolysate obtained using the enzyme protosubtilin G3x. *Vestnik of MSTU*, 28(3), pp. 342–347. (In Russ.) DOI: <https://doi.org/10.21443/1560-9278-2025-28-3-342-347>.

Введение

Белковый рыбный гидролизат – это продукт, полученный из вторичного рыбного сырья (головы, хребты) путем ферментативного гидролиза. Хребты и головы трески измельчали на мясорубке с диаметром отверстий решетки 7 мм. Анализом химического состава установлено, что содержание белка в отходах составляет от 15 % (за счет значительного количества прирезей мяса), содержание жира – 0,9 % (Petrova et al., 2021).

В качестве ферментного препарата использовали протосубтилин ГЗх ("Сиббиофарм", Россия) – фермент, полученный путем высушивания культуральной жидкости после глубинного выращивания культуры *Bacillus subtilis*. Концентрация фермента составила 1,33 % (Живлянцева и др., 2018; Kuranova et al., 2019). Опытный образец гидролизата был высушен в распылительной сушилке GB 22 (Yamato Scientific America Inc.) при температуре 200°.

Белковый рыбный гидролизат используется в качестве белковой составляющей в альтернативных микробиологических питательных средах (Новожилов и др., 2025). Основной характеристикой, оценивающей пригодность продукции для использования, является срок годности (Живлянцева и др., 2018; Kuranova et al., 2019). В связи с этим проведены исследования белкового рыбного гидролизата и оценены его характеристики в процессе хранения. С целью определения срока годности сухого продукта проведены испытания белкового рыбного гидролизата согласно МУК 4.2.1847-04 "Санитарно-эпидемиологическая оценка обоснования сроков годности и условий хранения пищевых продуктов. Методические указания", СанПиН 2.3.2.1324-03 "Гигиенические требования к срокам годности и условиям хранения пищевых продуктов".

Материалы и методы

Материалом для исследования служил белковый рыбный гидролизат, в апреле 2020 г. по разработанной авторами технологии изготовлено три партии гидролизата (06.04.20, 07.04.2020, 08.04.2020 соответственно) (Zhivlyantseva et al., 2024).

Исследования проведены авторами на базе Испытательной лаборатории продукции, сырья и материалов ФБУ "Мурманский ЦСМ" и Испытательной лаборатории Мурманского филиала "Национального центра безопасности рыбной и сельскохозяйственной продукции" (далее ИЦПСИМ ФБУ "Мурманский ЦСМ" и ФГБУ "НЦБРСП"), а также сотрудниками Испытательного центра контроля в г. Железнодорожный, Московской обл. (далее ИЦК).

При проведении экспериментальных исследований определялись следующие микробиологические показатели с использованием классических методов: КМАФАнМ – ГОСТ 10444.15-94 "Продукты пищевые. Методы определения количества мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов"¹, БГКП – ГОСТ 31747-2012 "Продукты пищевые. Методы выявления и определения количества бактерий группы кишечных палочек (колиформных бактерий)", *Staphylococcus aureus* – ГОСТ 31746-2012 "Продукты пищевые. Методы выявления и определения количества коагулазоположительных стафилококков и *Staphylococcus aureus*", *Salmonella* – ГОСТ 31659-2012 "Продукты пищевые. Метод выявления бактерий рода *Salmonella*", протей – ГОСТ 28560-90 "Продукты пищевые. Метод выявления бактерий родов *Proteus*, *Morganella*, *Providencia*", плесени и дрожжи – ГОСТ 10444.12-2013 "Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Методы выявления и подсчета количества дрожжей и плесневых грибов".

Обработка экспериментальных данных осуществлялась общепринятыми статистическими методами в программе Excel.

Результаты и обсуждение

Для оценки результатов испытаний белкового рыбного гидролизата была разработана программа, в соответствии с которой проведены испытания трех различных партий (дат изготовления) БРГ. Образцы были опечатаны и оставлены на хранение на протяжении всего предполагаемого срока годности с учетом срока, определенного коэффициентом резерва.

Опытные партии белкового рыбного гидролизата хранили в герметично упакованных банках в темном сухом месте при температуре 21 ± 2 °С и влажности воздуха 25 ± 1 . Исследования проводили по схеме: при выработке БРГ (в начале хранения – фон), в середине хранения (6 мес., 12 мес., 18 мес., 24 мес., 36 мес.), на момент предположительного окончания срока годности (48 мес.) и через промежуток времени, определенный соответствующим коэффициентом резерва (58 мес.). Коэффициент резерва для рыбного белкового гидролизата составляет 1,2. Программа исследований срока годности БРГ в процессе хранения представлена в табл. 1.

Отбор проб продукции проводился в соответствии с календарным планом в количестве, необходимом для проведения органолептических, физико-химических и микробиологических испытаний согласно ГОСТ 31339-2006 "Рыба, нерыбные объекты и продукция из них. Правила приемки и методы отбора проб"

¹ Информация о нормативных документах и ГОСТах представлена в Приложении.

(с изменениями 1, 2), ГОСТ 31904-2012 "Продукты пищевые. Методы отбора проб для микробиологических испытаний", ГОСТ 32164-2013 "Продукты пищевые. Метод отбора проб для определения стронция Sr-90 и цезия Cs-137 (с поправкой)".

Таблица 1. Программа исследований срока годности белкового рыбного гидролизата
в процессе хранения

Table 1. Research program of shelf life of fish protein hydrolysate during storage

№ п/п	Показатель	Значение показателя по НД	Периодичность за время хранения	Контрольные точки проведения исследований: месяц хранения				
				фон	6	12	18–36–48	58
1	Токсичные элементы: – свинец – мышьяк – кадмий – ртуть	1,0 5,0 0,2 0,5	1 раз после выработки	+				
2	Нитрозамины	0,003	1 раз после выработки	+				
3	Пестициды: – ГХЦГ (альфа-, бета-, гамма-изомеры) – ДДТ и его метаболиты	0,2 0,2	1 раз после выработки	+				
4	Полихлорированные бифенилы	2,0	1 раз после выработки	+				
5	Радионуклиды: – цезий-137 – стронций-90	130 100	1 раз после выработки	+				
6	КМАФАнМ, КОЕ/г	Не более 1×10^5	8 раз	+	+	+	+++	+
7	БГКП	Не допускаются в 0,001 г, в 0,01 г	8 раз	+	+	+	+++	+
8	<i>Staphylococcus aureus</i>	Не допускаются в 0,01 г, в 0,1 г	8 раз	+	+	+	+++	+
9	Сальмонеллы	Не допускаются в 25 г	8 раз	+	+	+	+++	+
10	Органолептические показатели	ТУ 10.20.42-119- 00471633-2023	8 раз	+	+	+	+++	+

С целью получения сравнительных результатов партия 1 частично была направлена на исследования в ИЦК (г. Железнодорожный) на половине предполагаемого срока хранения – 24 месяца. В связи с получением идентичных с авторами результатов анализов, дальнейший сравнительный анализ результатов не проводили.

Органолептические показатели – внешний вид, цвет, прозрачность, растворимость – соответствовали допустимым значениям на протяжении всего срока хранения.

Содержание токсичных элементов в БРГ составило: свинца – менее 1,0 мг/кг, кадмия – менее 0,2 мг/кг, мышьяка – менее 5,0 мг/кг, ртути – 0,5 мг/кг. Сумма нитрозаминов (НДМА и НДЭА) составила менее 0,003 мг/кг, полихлорированных бифенилов – менее 2,0 мг/кг. Анализ пестицидов выявил наличие гексахлорциклогексан (альфа-, бета-, гамма-изомеров) в количествах менее 0,02 мг/кг, ДДТ и его метаболитов – менее 0,2 мг/кг.

Содержание радионуклидов не превышало допустимой нормы и составило: цезий-137 – $4,3 \pm 0,1$ Бк/кг, стронций-90 – $3,9 \pm 0,1$ Бк/кг.

Микробиологическими исследованиями установлено отсутствие в массе продукта бактерий группы кишечных палочек, золотистого стафилококка, патогенных сальмонелл, а также показателей гнилостной порчи (протей, плесени, дрожжи). Динамика развития показателя КМАФАнМ в процессе хранения представлена в табл. 2 и на рисунке.

На рисунке видно, что фоновое значение КМАФАнМ в каждой партии составляло менее 10 КОЕ/г (роста нет). В процессе хранения количество микроорганизмов постепенно увеличивается, но не достигает максимально допустимого значения. Согласно ТУ 10.20.42-119-00471633-2023 максимально допустимое значение показателя КМАФАнМ составляет 5×10^3 . Белковый рыбный гидролизат относится к продуктам с низкой влажностью (менее 0,6), следовательно, развитие микроорганизмов в сухом продукте замедлено, что способствует длительному хранению.

Таблица 2. Динамика развития КМАФАнМ в процессе хранения
Table 2. Dynamics of QMAFAnM development during storage

Срок хранения, мес.	КМАФАнМ, КОЕ/г Партия 1	КМАФАнМ, КОЕ/г Партия 2	КМАФАнМ, КОЕ/г Партия 3
Фон	Менее 10	Менее 10	Менее 10
6	$6,0 \times 10^1$	$4,0 \times 10^1$	$8,3 \times 10^1$
12	$9,0 \times 10^1$	$7,0 \times 10^1$	$9,6 \times 10^1$
18	$1,2 \times 10^2$	$1,1 \times 10^2$	$2,8 \times 10^2$
24	$1,8 \times 10^2$	$1,6 \times 10^2$	$3,2 \times 10^2$
36	$2,5 \times 10^2$	$3,5 \times 10^2$	$3,5 \times 10^2$
48	$3,0 \times 10^2$	$4,0 \times 10^2$	$4,0 \times 10^2$
58 (период исследований с коэффициентом резерва 1,2)	$8,5 \times 10^2$	$8,5 \times 10^2$	$9,5 \times 10^2$

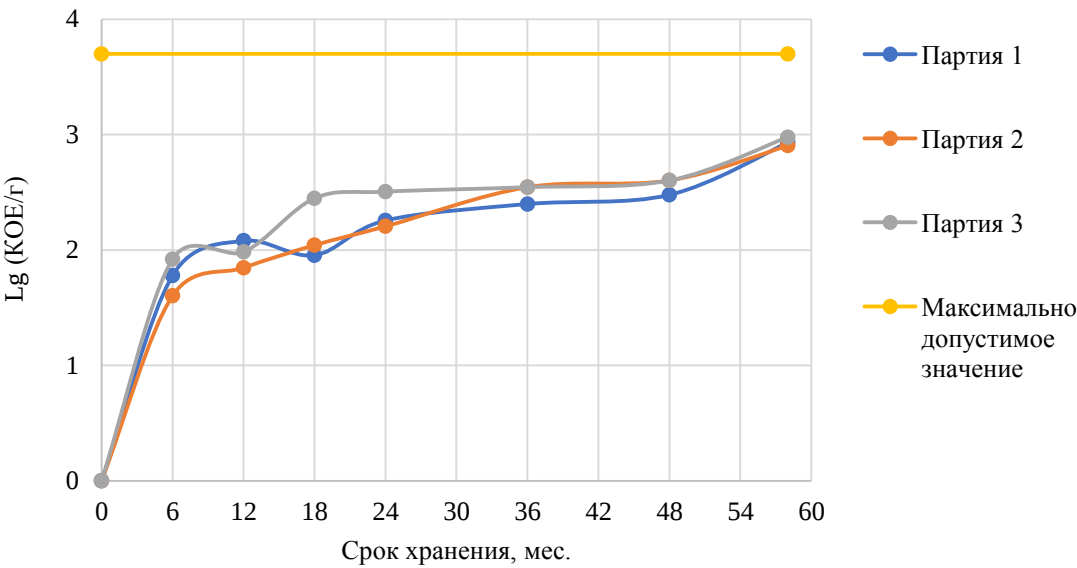


Рис. Динамика развития показателя КМАФАнМ в процессе хранения
Fig. Dynamics of QMAFAnM development indicator during storage

Результаты испытаний образцов продукции на протяжении всего проанализированного периода хранения подтвердили соответствие качества исследованного гидролизата требованиям Техническим регламентам ТР ТС 021/2011, ТР ЕАЭС 040/2016. Результаты испытаний аккредитованной лабораторией ИЦК г. Железнодорожный не противоречат результатам, полученным авторами. Таким образом, результаты исследований подтвердили предполагаемый срок годности 4 года.

Заключение

В результате проведенных исследований установлен научно обоснованный срок годности белкового рыбного гидролизата при температуре хранения не выше 25 °С и влажности окружающего воздуха не более 70 % – 4 года. Срок хранения продукта соответствует сроку его годности.

Результаты исследования по научному обоснованию срока годности продукта позволили разработать и утвердить нормативно-техническую документацию ТУ 10.20.42-119-00471633-2023 «Белковый рыбный гидролизат "Атлантика"» и ТИ 119/2023 на производство белкового рыбного гидролизата для микробиологических сред из отходов от разделки тресковых видов рыб.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Благодарности

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 24-26-20058, <https://rscf.ru/project/24-26-20058/>, а также при реализации Соглашения № 199 от 03.05.2024 г. между Минобрнауки Мурманской области и Мурманским арктическим университетом.

Библиографический список

- Живлянцева Ю. В., Куранова Л. К., Волченко В. И., Гроховский В. А. Пептон из вторичных продуктов переработки атлантической трески: технология, качество, использование // Вестник Камчатского государственного технического университета. 2018. № 45. С. 28–36. DOI: <https://doi.org/10.17217/2079-0333-2018-45-28-36>. EDN: YAAMBN.
- Новожилов М. П., Ершов М. А., Куранова Л. К. [и др.]. Исследование качества нового вида пастеризованной продукции из икры морских ежей // Биотехнологии – драйвер развития экономики территорий : материалы II Всерос. науч.-практ. конф., Мурманск, 26 ноября 2024 г. Мурманск : Изд-во МАУ, 2025. С. 40–44. EDN: SMTDAJ.
- Kuranova L. K., Grokhovsky V. A., Zhivlyantseva Yu. V., Volchenko V. I. Developing the technology and evaluating the biological value of the peptone from secondary products of processing of fish raw material of the Arctic region // International Journal of Mechanical Engineering and Technology (IJMET). 2019. Vol. 10, Iss. 3. P. 1880–1893.
- Petrova I., Tolstorebrov I., Zhivlyantseva Yu., Eikevik T. M. Utilization of fish protein hydrolysates as peptones for microbiological culture media // Food Bioscience. 2021. Vol. 42. Article number: 101063. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2021.101063>.
- Zhivlyantseva Yu. V., Kuranova L. K., Grokhovsky V. A. The use of protein hydrolysate from fish waste as part of microbiological culture media // Вестник МГТУ. 2024. Т. 27, № 3. С. 294–301. DOI: <https://doi.org/10.21443/1560-9278-2024-27-3-294-301>.

References

- Zhivlyantseva, Yu. V., Kuranova, L. K., Volchenko, V. I., Grokhovsky, V. A. 2018. Peptone from by-products of Atlantic cod processing: Technology, quality, use. *Bulletin of Kamchatka State Technical University*, 45, pp. 28–36. (In Russ.) DOI: <https://doi.org/10.17217/2079-0333-2018-45-28-36>. EDN: YAAMBN.
- Novozhilov, M. P., Ershov, M. A., Kuranova, L. K. et al. 2025. Study of the quality of a new type of pasteurized products from sea urchin caviar. Proceedings of the II All-Russian scientific and practical conf. *Biotechnology – a driver for the development of territorial economies*, Murmansk, 26 November, 2024. Murmansk, pp. 40–44. EDN: SMTDAJ. (In Russ.)
- Kuranova, L. K., Grokhovsky, V. A., Zhivlyantseva, Yu. V., Volchenko, V. I. 2019. Developing the technology and evaluating the biological value of the peptone from secondary products of processing of fish raw material of the Arctic region. *International Journal of Mechanical Engineering and Technology (IJMET)*, 10(3), pp. 1880–1893.
- Petrova, I., Tolstorebrov, I., Zhivlyantseva, Yu., Eikevik, T. M. 2021. Utilization of fish protein hydrolysates as peptones for microbiological culture media. *Food Bioscience*, 42. Article number: 101063. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2021.101063>.
- Zhivlyantseva, Yu. V., Kuranova, L. K., Grokhovsky, V. A. 2024. The use of protein hydrolysate from fish waste as part of microbiological culture media. *Vestnik of MSTU*, 27(3), pp. 294–301. DOI: <https://doi.org/10.21443/1560-9278-2024-27-3-294-301>.

Сведения об авторах

Живлянцева Юлия Вячеславовна – ул. Траловая, 47А, г. Мурманск, Россия, 183001;

Национальный центр безопасности рыбной и сельскохозяйственной продукции,

начальник отдела микробиологических исследований;

e-mail: youliaPETRAKOVA@mail.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4957-297X>

Yuliia V. Zhivlyantseva – 47A Tralovaya Str., Murmansk, Russia, 183001;

National Center for Fish and Agricultural Products Safety, Head of the Microbiological Research Department;

e-mail: youliaPETRAKOVA@mail.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4957-297X>

Куранова Людмила Казимировна – ул. Спортивная, 13, г. Мурманск, Россия, 183010;

Мурманский арктический университет, канд. техн. наук;

e-mail: kuranoval@rambler.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6899-6076>

Lyudmila K. Kuranova – 13 Sportinaya Str., Murmansk, Russia, 183010;

Murmansk Arctic University, Cand. Sci. (Engineering);

e-mail: kuranoval@rambler.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6899-6076>

Нормативные документы, использованные в статье

ГОСТ 10444.12-2013	Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Методы выявления и подсчета количества дрожжей и плесневых грибов
ГОСТ 10444.15-94	Продукты пищевые. Методы определения количества мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов
ГОСТ 28560-90	Продукты пищевые. Метод выявления бактерий родов <i>Proteus</i>
ГОСТ 31339-2006	Рыба, нерыбные объекты и продукция из них. Правила приемки и методы отбора проб
ГОСТ 31659-2012	Продукты пищевые. Метод выявления бактерий рода <i>Salmonella</i>
ГОСТ 31746-2012	Продукты пищевые. Методы выявления и определения количества коагулазоположительных стафилококков и <i>Staphylococcus aureus</i>
ГОСТ 31747-2012	Продукты пищевые. Методы выявления и определения количества бактерий группы кишечных палочек (колиформных бактерий)
ГОСТ 31904-2012	Продукты пищевые. Методы отбора проб для микробиологических испытаний
ГОСТ 32164-2013	Продукты пищевые. Метод отбора проб для определения стронция Sr-90 и цезия Cs-137
ГОСТ 10444.15-94	Продукты пищевые. Метод выявления бактерий родов <i>Proteus</i> , <i>Morganella</i> , <i>Providencia</i>
МУК 4.2.1847-04	Санитарно-эпидемиологическая оценка обоснования сроков годности и условий хранения пищевых продуктов. Методические указания
СанПиН 2.3.2.1324-03	Гигиенические требования к срокам годности и условиям хранения пищевых продуктов
ТР ТС 021/2011	Технический регламент Таможенного союза "О безопасности пищевой продукции"
ТР ЕАЭС 040/2016	Технический регламент Евразийского экономического союза "О безопасности рыбы и рыбной продукции"