

УДК 664.959.5

КОЛЯДА М.К.¹, ПЛАВАН В.П.¹, САФРАНОВ Т. А.²,
МЕЛЬНИК К.С.¹

¹Київський національний університет технологій та дизайну

²Одеський державний екологічний університет

РОЗРОБКА МЕТОДУ УТИЛІЗАЦІЇ КОЛАГЕНВМІСНИХ ВІДХОДІВ РИБОПЕРЕРОБНОЇ ПРОМИСЛОВОСТІ

Мета. Розробка методу утилізації відходів, отриманих після розбирання скумбрії (*Scomber*) та визначання раціонального способу використання отриманих колагенвмісних матеріалів.

Методика. Колагенові гідролізати отримували лужно-ферментативним методом окремо або у поєднанні з обробкою перекисом водню при звичайній та підвищеній температурі. Ступінь гідролізу визначали за вмістом загального азоту в кінцевому продукті.

Результати. Застосування лужно-ферментативного методу гідролізу з попереднім промиванням лугом забезпечує отримання гідролізату із збалансованим амінокислотним складом, що підтверджено методом рідинно-колонкової хроматографії.

Наукова новизна. Розроблений ефективний метод нутроців скумбрії (*Scomber*), які традиційно не переробляються, а вивозяться на звалища, що наносить шкоду довкіллю.

Практична значимість. Гідролізат може бути використаний для виробництва органічних добрив та стимуляторів росту у тваринництві, а після подальших модифікацій, як компонент біополімерних матеріалів.

Ключові слова: переробка відходів, колаген, ферментативний гідроліз, амінокислотний склад.

Вступ. Відходи рибопереробної промисловості є постійним джерелом забруднення навколишнього середовища, враховуючи той факт, що протягом останнього десятиліття світовий вилов та споживання риби постійно зростають [1]. Сучасне виробництво риби супроводжується формування великої кількості відходів (голів, кісток, шкіри, нутроців тощо) які становлять від 30 до 70 % (Рис 1.) від маси риби [2], що становить майже 32 млн. т. відходів щорічно [3]. Часткове їх використання з одного боку призводить до втрати важливого протеїнового продукту, а з іншого – до забруднення навколишнього середовища.

Відходи рибопереробної промисловості можуть перероблятися у корисні продукти, наприклад, для створення біорозкладних композитних матеріалів [3, 4]. Гідролізати із вторинних продуктів рибопереробки можуть бути використані в якості корму для тварин, а також як компонент добрива [5].

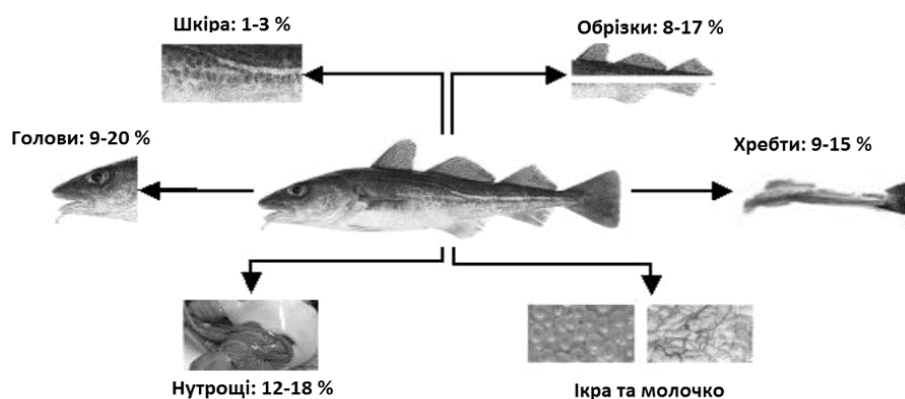


Рис. 1 Масовий баланс відходів від переробки

Постановка завдання. Мета роботи – розробка методу утилізації відходів, отриманих після розбирання скумбрії (*Scomber*) та визначання раціонального способу використання отриманих колагенвмісних матеріалів.

Результати дослідження. В якості об'єкту досліджень було обрано відходи від переробки скумбрії (нутрощі) отримані після обвалювання риби. Зазвичай ці відходи не використовуються та не переробляються та залишаються на звалищах та полігонах.

Відходи були законсервовані хлоридом натрію (100 % від маси відходів). Для визначення хімічного складу колагенвмісних відходів визначали вміст вологи, мінеральних речовин, загального азоту та речовин, які екстрагуються органічними розчинниками згідно [6]. Хімічний склад відходів наведено в (табл. 1). Високий вміст мінеральних речовин пов'язаний із попереднім консервуванням хлоридом натрію.

Таблиця 1

Результати хімічного аналізу законсервованих відходів

Вміст, %	
- вологи	43,5
- мінеральних речовин	38,6
- жиру	8,9
- загального азоту	7,9

Колаген типу I виявився основним корисним компонентом у шкірі, кістках та нутрощах різних типів риб [7]. Колаген риби складається з двох α -спіралей, які в свою чергу відомі як α -1 та α -2 [8]. Рибний колаген чутливий до дії температур через слабкий поперечний міжмолекулярний зв'язок в порівнянні з ссавцями, а також має менший вміст гідроксипроліну [9].

Отримання гідролізату. Гідролізат отримали лужно-ферментативним методом окремо або у поєднанні з обробкою перекисом водню при звичайній та підвищеній температурі. Ступінь гідролізу визначали за вмістом загального азоту в кінцевому продукті.

Лужно-ферментативний гідроліз рибних відходів проводили протягом 6-8 годин при температурі 40 °С таким способом: нутрощі скумбрії промивали проточною водою, подрібнювали до консистенції фаршу, завантажували у реактор, додавали 50 % води від маси відходів; перекис водню 1,6 % (в розрахунку на 100 %) від маси відходів; 2 % мас.ч. NaOH.

Ферментативний гідроліз проводили протягом 4-х годин, витрата ферменту склала 3 %. рН отриманої суміші доводили до 6,8-7,0 за допомогою розчину карбонату натрію. Після розділення шарів гідролізату на подільній воронці, його випарювали до бажаної концентрації.

Якість гідролізу контролювали за допомогою вмісту загального азоту у продукті, який становив 12,2 г/л. Недоліком отриманого продукту був темно-коричневий колір і неприємний «рибний» запах.

Для інтенсифікації процесу гідролізу, проводили попередню обробку перекисом водню. Ефективність такої обробки була підтверджена в попередніх дослідженнях з використанням відходів шкіряної промисловості [10]. На жаль, у випадку з рибними відходами, така обробка показала неефективність. Незважаючи на загальний вміст азоту в кінцевому продукті, який складав 15,4 г/л, був присутній неприємний запах, як результат утворення перекисів через часткове окислення жирів.

Відносно високий вміст жиру в колагенових відходах рибної промисловості, негативно впливає на властивості гідролізатів. Жир піддається окисленню, що призводить до швидкого псування отриманого продукту, а також є джерелом неприємного «рибного» запаху. Тому потрібно проведення додаткового попереднього знежирення, суть якого полягає у звільненні пор, капілярів та позаклітинного простору від жирів, що там містяться.

Найбільш раціональним способом знежирити колагенові відходи рибної промисловості є використання попередніх ферментативних обробок. Ферменти розщеплюють білки і структуру тканин, і таким чином вивільнюють жир.

Для проведення кислотно-ферментативного гідролізу, були використані розчини з різною концентрацією оцтової кислоти і ферменту. Фермент Zime SB: активність 1500 од/г, оптимальний рН=3,5-6,5. Витрата ферменту склала 1,3%, ступінь гідролізу визначали за загальний вмістом азоту в кінцевому продукті (Табл. 2).

Таблиця 2

Характеристика методів та продуктів гідролізу

№ п/п	Промивання лугом	Проведення гідролізу				Вміст, г/л		
		Луг	Фермент	Кислота	H ₂ O ₂	Азот	СЗ	Зола
1	-	+	+	-	-	12,2	218,9	124,4
2	-	+	+	-	+	15,4	215,3	120,2
3*	+	-	+	+	-	11,2	15,2	4,9
4**	+	-	+	+	-	14,3	22,3	9,0

* Тривалість промивання лугом 24 години. Кислотно-ферментативний гідроліз: тривалість 4 год, t= 40 °С.

** Кислотно-ферментативний гідроліз тривалість 4 год., t= 40 °С і 8 годин. Тривалість промивання лугом зменшена до 1,5 годин. Луг дозували в 3-4 прийоми через кожні 30 хв.

Метод іонообмінної рідинно-колонкової хроматографії. Для проведення якісного та кількісного аналізу амінокислотного складу колагенвмісних відходів та отриманого гідролізату використали метод іонно-обмінної рідинноколонкової хроматографії із застосуванням 339М автоматичного аналізатора фірми (Microtechna, the Czech Republic).

Результати дослідження та їх обговорення. Зменшення тривалості попередньої промивки лугом призводить до збільшення кількості мінеральних речовин в кінцевому

продукті (Табл. 2). Збільшення тривалості кислотного-ферментативного гідролізу позитивно впливає на якість кінцевого продукту, вміст загального азоту підвищується.

В результаті гідролітичного розкладання рибного колагену, кількість основних амінокислот збільшується внаслідок розриву пептидних зв'язків (Табл. 3), вміст аргініну підвищується до 9,59 %. В рибному колагеновому гідролізаті вміст таких незамінних амінокислот як валін (2,63 %), гістидин (1,37 %), який є дуже важливою амінокислотою у відгодівлі молодняку тварин; ізолейцин і лейцин (1,72 і 5,04 %), метіонін (2,03 %), треонін (3,92 %), фенілаланін (2,84%) вищий, ніж в колагеновому гідролізаті зі шкір ВРХ.

Таблиця 3

Амінокислотний склад риб'ячого колагену та колагену ВРХ

Амінокислота	Нативний колаген ВРХ [11]	Колагеновий гідролізат (лужний) [10]	Нативний колаген <i>Scomber</i> [12]	Колагеновий гідролізат (кислотний) <i>Scomber</i>
Gly (G)	33,4	7,10	3,4	17,68
Pro (P)	13,2	6,86	3,8	6,64
Ala (A)	10,7	6,76	5,4	7,79
Hyp (X)	8,3	8,25	5,4	1,76
Glu (E)	7,5	6,13	14,8	15,16
Arg (R)	5,0	7,11	5,6	9,59
Asp (D)	4,9	4,21	10,3	7,66
Ser (S)	3,2	2,35	4,3	5,92
Leu (L)	2,8	1,77	8,4	5,04
Lys (K)	2,8	5,94	10,5	4,73
Val (V)	2,4	4,05	6,1	2,63
Thr (T)	1,9	3,74	4,9	3,92
Ile (I)	1,4	1,55	5,0	1,72
Phe (F)	1,3	2,19	4,6	2,84
Met (M)	0,7	0,68	3,0	2,03
His (H)	0,6	1,02	6,6	1,37
Tyr (Y)	0,4	1,34	1,2	1,64
Total	100	100	100	100

Наявність реакційно здатних груп дає можливість змінювати властивості гідролізатів. Найбільш реакційно здатними групами білка є ті, що містяться в амінокислотах серин (первинна група OH), гідроксипролін (вторинні-OH), треонін (вторинний-OH), тирозин (фенольні OH), аспарагінова і глутамінова кислоти містять групу -COOH, лізин і аргінін містять аміногрупи. Для хімічної модифікації гідролізатів можна застосувати зшиваючі реагенти (зокрема альдегіди крохмалю, ферменти тощо) [13, 14].

Таким чином, отриманий гідролізат є збалансованим за амінокислотним складом, може використовуватись для отримання органічних добрив і стимуляторів росту, як кормова домішка у звіроводстві, а після подальшої модифікації як компонент композиційних матеріалів і біополімерів.

Висновки. Розроблений метод утилізації відходів, отриманих після розбирання скумбрії (*Scomber*). Метод включає кислотного-ферментативний гідроліз відходів в розчині

оцтової кислоти в присутності ферменту в поєднанні з попереднім промиванням лугом для видалення розчинних білків. Скорочення тривалості промивки лугом призводить до збільшення вмісту мінеральних речовин в кінцевому продукті. Підвищення тривалості кислотного-ферментативного гідролізу має позитивний вплив на якість кінцевого продукту та впливає на підвищення вмісту загального азоту. Отриманий гідролізат має збалансований амінокислотний склад і може бути використаний для виробництва органічних добрив та стимуляторів росту у тваринництві, а після подальших модифікацій, як компонент біополімерних матеріалів.

Список використаної літератури

1. Food and Nutrition in Numbers [Текст] / Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). – Roma: FAO, 2014. – 245 с.
2. Shahidi F. Seafood processing by-products [Текст] / F. Shahidi // F. Shahidi and J.R. Botta Seafoods chemistry, processing, technology and quality / Glasgow. – Blackie Academic and Professional, 1994. – С. 320-334.
3. Kristinsson H.G., Rasco B.A. Fish protein hydrolysates: production, biochemical, and functional properties / H.G. Kristinsson, B.A. Rasco // Critical Reviews in Food Science and Nutrition. – 2000. – № 40. – С. 43–81.
4. Guerard F., Dufosse L., De La Broise D., Binet A. Enzymatic hydrolysis of proteins from yellow fin tuna (*Thunnus albacares*) wastes using Alcalase / F. Guerard, L. Dufosse, D. De La Broise, A. Binet // Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic. – 2001. – № 11. – С. 1051–1059.
5. Ioannis S. Arvanitoyannis, Aikaterini Kassaveti Fish industry waste: treatments, environmental impacts, current and potential uses / Arvanitoyannis Ioannis S., Kassaveti Aikaterini // International Journal of Food Science and Technology. – 2008. – № 43. – 726–745.
6. Данилкович А. Г. Практикум з хімії і технології шкіри та хутра: 2-ге вид., перероб. і доп.: Навч. посібник. – К.: Фенікс, 2006. – 340 с.
7. Silvipriya K. S., Krishna Kumar K., Bhat A. R., Dinesh Kumar B., Anish John, Panayappan Lakshmanan. Collagen: Animal Sources and Biomedical Application / K. S. Silvipriya, Kumar K. Krishna, A. R. Bhat, Kumar B. Dinesh, John Anish, Lakshmanan Panayappan // *Journal of Applied Pharmaceutical Science*. – 2015. – № 5(3). – С.123–127.
8. Gómez-Guillén M.C., Giménez B., López-Caballero M.E., Montero M.P. Functional and bioactive properties of collagen and gelatin from alternative sources: A review / M.C. Gómez-Guillén, B. Giménez, M.E. López-Caballero, M.P. Montero // *Food Hydrocolloids*. – 2011. – № 25(8). – С.1813–1827.
9. Sato K., Yoshinaka R., Yoshiaki I., Sato M. // *Comparative Biochemistry and Physiology*. – 1989. – № 92B(1). – С.87–91.
10. Extraction of Collagen from Phosphonium Tanned Leather Waste and Research of its Properties [Текст] / Plavan, V., Kovtunenکو, O., Koliada, M. / Abstract of 2013 CAS - TWAS Symposium on Green Technology (SGT2013), Beijing.
11. Heidemann E. Fundamentals of Leather Manufacture. – Darmstadt: Eduard Roether KG, 1993.
12. Sun Young Lim, Effect of catch areas on chemical composition and heavy metals concentration of chub mackerel (*Scomber japonicus*) / Lim Sun Young // *Life Science Journal*. – 2012. – № 9(3). – С.1276–1280.
13. Bucevschi, M.D., Chirita, G., Colt, M. *et al.* Chemical modification of collagen hydrolyzates / M.D. Bucevschi, G. Chirita, M. Colt *et al.* // *J. Amer. Leather. Chem. Ass.*. 1999. – № 94(2). – 89–95.
14. Пат. WO 01/12723A1 Blends of biodegradable Poly(hydroxy ester ether) thermoplastic with renewable proteins [Текст] / Chaohua W., Craig, C.; заявник US AGRICULTURE [US];

BIOTECHNOLOGY RES & DEV [US]. – № WO2000US40658 20000816; заявл. 21.02.1997; опубл. 22.12.1998.

РАЗРАБОТКА МЕТОДА УТИЛИЗАЦИИ КОЛЛАГЕНСОДЕРЖАЩИХ ОТХОДОВ РЫБОПЕРЕРАБАТЫВАЮЩЕЙ ПРОМЫШЛЕННОСТИ

КОЛЯДА М.К.¹, ПЛАВАН В.П.¹, САФРАНОВ Т. А.², МЕЛЬНИК К.С.¹

¹ Киевський національний університет технологій і дизайну

² Одеський державний екологічний університет

Цель. Разработка метода утилизации отходов, полученных после обваливания скумбрии (*Scomber*) и определение рационального способа использования полученных коллагенсодержащих материалов.

Методика. Коллагеновые гидролизаты получали щелочно-ферментативным способом отдельно и в совмещении с обработкой перекисью водорода при обычной и повышенной температуре. Степень гидролиза определяли по содержанию общего азота в конечном продукте.

Результаты. Использование щелочно-ферментативного гидролиза с предварительным промыванием щелочью обеспечивает получение гидролизата со сбалансированным аминокислотным составом, что подтверждено методом жидкостно-колоночной хроматографии.

Научная новизна. Разработан эффективный метод утилизации внутренностей скумбрии (*Scomber*), которые традиционно не перерабатываются а вывозятся на свалки, что приносит вред окружающей среде.

Практическая значимость. Гидролизат может использоваться для получения органических удобрений и стимуляторов роста в животноводстве, а после дальнейшей модификации как компонент композиционных материалов и биополимеров.

Ключевые слова: переработка отходов, коллаген, ферментативный гидролиз, аминокислотный состав.

DEVELOPMENT OF FISH INDUSTRY WASTE DISPOSAL METHOD

KOLIADA M.K.¹, PLAVAN V.P.¹, SAFRANOV T.A.², MELNYK K.S.¹

¹ Kyiv National University of Technologies & Design

² Odessa National Ecology University

Purpose. Development of fish industry waste disposal method, obtained after the processing of mackerel (*Scomber*) and determining a rational of obtained collagen containing material application.

Methodology. Collagen hydrolyzates were obtained by an alkali-enzymatic method with pre-treatment by hydrogen peroxide at room and the elevated temperature. The degree of hydrolysis was determined by the total nitrogen content in the final product.

Findings. It has been shown, that the use of alkali-enzymatic method hydrolysis with prior washing by alkali give us hydrolyzate with balanced amino acid composition, what was confirmed by liquid column chromatography.

Originality. An effective method of *Scomber* offal waste disposal was developed, which traditionally not processed and are taken to the landfills, and creates damage to the environment.

Practical value. Hydrolyzate can be used for producing organic fertilizers and growth stimulants in animal farming, and after further modification as a component of composite materials and biopolymers.

Keywords: waste treatment, collagen, enzymatic hydrolysis, amino acid composition.