

УДК 639.211.597.1.05

**Р.В. Есипенко, Н.Н. Ковалев, Д.В. Порваткин**

Дальневосточный государственный технический рыбохозяйственный университет,  
690087, г. Владивосток, ул. Луговая, 52б

## **ОБОСНОВАНИЕ БИОТЕХНОЛОГИИ МЕРЦЕНАРИИ СТИМПСОНА**

*Проведено определение основных параметров ферментализации пучка мягких тканей мерценарии под действием протеолитических ферментов. Установлено, что оптимальное время ферментализации под действием протамекса и мегатерина составляет 2,5–3 ч. Использование молочной сыворотки для обогащения конечного продукта оказывает тормозящее действие на протамекс.*

**Ключевые слова:** мерценария, ферментализация, протамекс, мегатерин, молочная сыворотка.

**R.V. Esipenko, N.N. Kovalev, D.V. Porvatkin**

## **SCIENTIFIC SUBSTANTIATION OF MERCENARIA SIMPSONI BIOTECHNOLOGY**

*The main parameters of mercenaria beam soft tissue fermentolysis under the action of proteolytic enzymes was estimate. It is established that the optimal time of enzymatic hydrolysis under the of protamex and megaterin action is 2.5-3 hours. The use of whey for the enrichment of the final product has an inhibitory are effect on protomex activity.*

**Key words:** mercenaria, enzymatic hydrolysis, protalex, megateen, whey.

### **Введение**

В последние десятилетия значительно увеличился объем вылова двустворчатых моллюсков, в том числе новых промысловых видов, в употреблении которых прослеживается тенденция их отнесения к деликатесной продукции. Особенностью состава двустворчатых моллюсков является наличие в них полноценных белков и незначительное содержание липидов, что позволяет применять ферментативные способы обработки данного вида сырья для получения новых белковых продуктов [1, 2, 8].

Одним из перспективных для промышленной переработки видов двустворчатых моллюсков Дальневосточного бассейна является мерценария Стимпсона.

В настоящее время мерценарию в живом виде экспортируют в страны АТР, так как её переработка в России не налажена из-за отсутствия данных о её безопасности, пищевой и биологической ценности.

Мерценария – зарывающийся моллюск, обитает в зал. Петра Великого, в прибрежных водах Северного Приморья, у берегов Южного Сахалина и Курильских о-вов, в водах Татарского пролива. Суммарный промысловый запас этого моллюска в южной части подзоны Приморье составляет 15,194 тыс. т, в северной – 832 т. Доля мягких тканей у мерценарии промыслового размера составляет от 14,6 до 21 % от массы особи, тогда как у спизулы и анадары их масса составляет 28–32 % [3, 4, 5].

Исследование химического состава мерценарии показало, что количество белковых веществ в зависимости от сезона вылова колеблется в ноге в пределах 8,6–9,3 %, а в мантии – 9,1–9,8 %. Сравнение мерценарии с другими видами клемм показывает, что она отличается более низким содержанием в мягких тканях белка и углеводов. Так, массовая доля белка в мягких тканях спизулы сахалинской изменяется от 13,1 (нога) до 20,2 % (аддуктор), а углеводов – от 1,4 в мантии до 6,5 % в ноге [3].

Энергетическая ценность мяса мерценарии как летнего, так и осеннего уловов, не превышает 52 ккал. Следовательно, мерценария может служить сырьём для производства диетических низкокалорийных продуктов.

Принимая во внимание невысокий выход съедобных частей (12–16 %) и значительную массу твёрдых и мягких отходов (68–72 %), можно предположить, что экономически рациональным способом переработки мерценарии может являться получение белковых гидролизатов и биологически активных веществ.

Целью работы являлось определение размерно-массового состава, выхода пучка мягких тканей и рациональных параметров ферментализации мерценарии Стимпсона для разработки технологии комбинированных продуктов.

**Объекты и методы исследований**

Объектом исследований служила мерценария-сырец, выловленная в водах Северного Приморья (бухта Каменка). Ферментализацию пучка мягких тканей проводили под действием ферментных препаратов протамекс (365 Е/г) и мегатерин (170 Е/г). О степени гидролиза судили по накоплению аминного азота. Количество молочной кислоты определяли методом капиллярного электрофореза.

**Результаты и их обсуждение**

Для разработки рекомендаций по использованию мерценарии необходимо определить пищевую и биологическую ценность ноги и мантии. При выборе способа использования двустворчатых моллюсков важное значение имеет не только химический состав, но и соотношение частей тела.

В ранее проведенных исследованиях было показано, что при разделке мерценарии выход съедобных частей составляет 12–16 % (табл. 1).

При этом масса внутренностей может достигать 5,7 %. Однако для расчета материальных потоков необходимо учитывать размерно-массовые характеристики объекта переработки и всех компонентов содержимого ракушки. Для этого нами проведено определение размерно-массовых характеристик мерценарии и выход пучка мягких тканей при разделке (табл. 2).

Таблица 1

**Выход частей тела при разделке мерценарии Стимпсона**

Table 1

**Output body parts of mercenaria of Stimpsonia**

Выход, % от общей массы моллюска			
Раковина	Нога	Мантия	Внутренности
61,9–68,2	6,1–8,2	5,8–7,8	3,6–5,7

Таблица 2

**Размерно-массовые характеристики мерценарии Стимпсона**

Table 2

**Size-mass characteristics of mercenaria Stimpsonia**

n	Размер, мм	Общая масса, г	Масса мягких тканей, г	Масса раковины, г	Полостная жидкость, г
40	<u>47–71</u> 59	<u>31–125</u> 78	<u>4–20</u> 12	<u>22–98</u> 60	<u>1–25</u> 13

Примечание. В числителе – диапазон показателей; в знаменателе – среднее значение.

Проведенное определение показало, что основную долю массы моллюска составляет раковина (около 80 % массы), а на долю мягких тканей приходится около 15 % от массы моллюска-сырца. Следует отметить, что значительную, сопоставимую с массой мягких тканей,

долю веса моллюска составляет внутриволокнистая жидкость – около 16 %. Данный факт необходимо учитывать при расчете выхода мягких или съедобных частей моллюска.

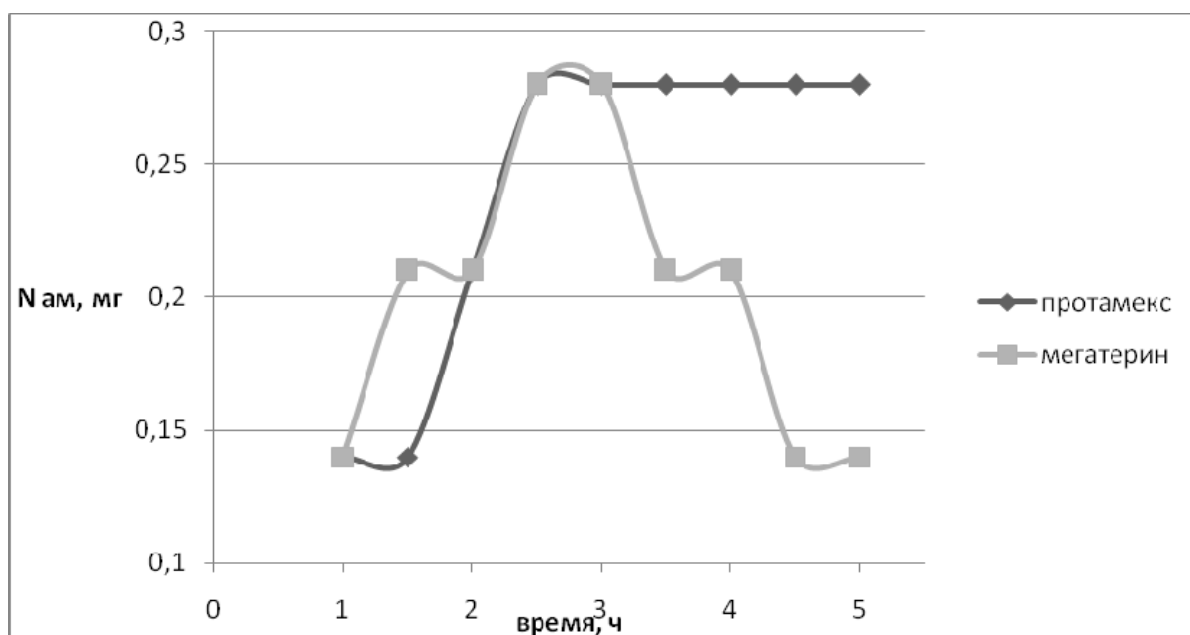
В мышечной ткани мерценарии среди свободных аминокислот обнаружено высокое (более 900 мг на 100 г сырой ткани) содержание таурина (сульфоглицина) – биологически активной аминокислоты. Эти данные свидетельствуют о высокой биологической ценности мяса мерценарии и о целесообразности использования её для производства пищевых, в том числе лечебно-профилактических продуктов.

Ранее проведённые нами исследования и литературные данные [5, 6] свидетельствуют о том, что низкое содержание липидов является отличительной особенностью мягких тканей двустворчатых моллюсков.

Принимая во внимание невысокий выход съедобных частей (12 %) и значительную массу твёрдых и мягких отходов (77 %), можно заключить, что экономические показатели предприятия по переработке мерценарии можно улучшить, изыскав рациональный способ переработки моллюска целиком и отходов его разделки. Учитывая морфологическое строение отдельных органов, можно предположить, что среди мягких тканей мерценарии для изготовления традиционных пищевых продуктов наибольшую ценность представляет двигательный мускул (нога). Мантия с обрезками аддуктора (мускула-замыкателя) – тонкая полупрозрачная пленка, трудно отделяемая от стенок раковины, может найти применение, вероятнее всего, как источник продуктов белковой природы. Одним из рациональных способов переработки сырья водного происхождения является его ферментативная биоконверсия.

Для разработки биоконверсии сырья необходимо установить оптимальные параметры протекания процесса. Одним из основных параметров процесса является его длительность.

Проведенные исследования показали, что при внесении в гомогенат тканей мерценарии (гидромодуль 1 : 1) ферментных препаратов протамекс (6 Пе/г) или мегатерин (2,9 Пе/г) оптимальное время гидролиза как в случае протамекса, так и в случае мегатерина составляло 2,5–3 ч (рисунок). Следует отметить, что в случае протамекса дальнейшая скорость гидролиза субстрата снижалась. В то же время процесс ферментализации под действием мегатерина проходил при постоянной скорости вплоть до 5 ч гидролиза.



Определение оптимального времени гидролиза пучка тканей мерценарии  
Determination the optimal hydrolysis time of beam mercenaria tissue

Полученные нами данные отличаются от описанных в литературе. Так, было показано, что время, которое требовалось для гидролиза тканей двустворчатых моллюсков (гребешок) и щупалец кальмара составляло 4,5–6 ч, для мантии кальмара – от 3 до 5 ч, в зависимости от используемого ферментного препарата [1]. Очевидно, что оптимальное время гидролиза зависит от белков, входящих в состав сырья.

Используемый для гидролиза материал (пучок мягких тканей) содержит белки различной природы, среди которых имеются структурные (эластин, коллаген), плазматические (альбумины и глобулины) и сократительные (актин и миозин). Зависимость степени расщепления белоксодержащего сырья от концентрации ферментных препаратов представлена в табл. 3.

Таблица 3

**Зависимость скорости гидролиза пучка тканей мерценарии от концентрации ферментов**

Table 3

**The dependence of beam mercenaria tissue rate hydrolysis by enzymes concentration**

Фермент	Количество фермента, % от навески ткани	Аминный азот, мг/мл
Протамекс	1	0,14
	2	0,21
	5	0,35
Мегатерин	1	0,14
	2	0,21
	5	0,28

Проведенные исследования не позволили определить оптимальную концентрацию ферментов для гидролиза исследованного сырья. Полученные данные свидетельствуют, что степень гидролиза сырья возрастает при использовании протамекса в диапазоне концентраций 3,6–18,0 Е/г и для мегатерина – в диапазоне концентраций 1,7–8,5 Е/г. Вопрос определения оптимальных концентраций ферментов для процесса гидролиза пучка тканей мерценарии требует дополнительного изучения, так как известно, для ферментных препаратов микробного происхождения эффективной концентрацией для гидролиза мантии гребешка является 4,5–5,5 Пе/г [1].

Поскольку мерценария является сырьем с невысоким содержанием белка, ее использование в технологии белковых концентратов или пищевых добавок без дополнительного обогащения состава представляется нерациональным. Одним из способов обогащения белкового и аминокислотного составов продуктов является внесение молочной сыворотки.

Молочную сыворотку и продукты, полученные из нее, можно рассматривать как биологически полноценные с диетическими и даже лечебными свойствами, обеспечивающими охрану внутренней среды организма. Молочная сыворотка – биологически ценный продукт питания, особенно за счет значительного содержания лактозы. Замедленный, в сравнении с другими углеводами, гидролиз лактозы в кишечнике ограничивает процессы брожения, нормализует жизнедеятельность полезной микрофлоры и предупреждает аутоинтоксикацию. Сывороточные белки, которые являются важным компонентом молочной сыворотки, оптимально сбалансированы по аминокислотному набору, особенно серосодержащих аминокислот – цистина, метионина. Главными белками сыворотки являются  $\alpha$ - и  $\beta$ -лактоглобулины. Использование белков молочной сыворотки в пищевых целях имеет большое практическое значение. Многокомпонентность и наличие бифидогенных свойств концентратов сыворотки предполагают использование их в рецептурах в качестве регуляторов сбалансированности химического и аминокислотного составов готовых изделий. Отмечается, что максимальная глубина гидролиза молочных белков достигается при 3-часовой ферментной обработке

«Панкреатином», температуре  $50 \pm 1$  °С, концентрации ферментного препарата 2 % по массе сухих веществ. Показано, что через 4 ч гидролиза 41 % белкового материала переходит во фракцию в диапазоне молекулярных масс менее 1,4 кД [7].

Была проведена серия экспериментов по оценке влияния молочной сыворотки на процесс ферментализации пучка мягких тканей мерценарии. Ферментализацию проводили при концентрации ферментов 2 %, времени ферментализации 4 ч, соотношении водного гомогената тканей моллюска и молочной сыворотки составляло 1 : 1.

Таблица 4

### Влияние молочной сыворотки на ферментализацию тканей мерценарии

Table 4

#### The effect of whey on mercenaria tissues enzymatic hydrolysis.

Образец	Фермент	Аминный азот, мг/г	Содержание молочной сыворотки, мг/г
Гомогенат ткани	Протамекс	0,14	-
Гомогенат ткани + молочная сыворотка		0,14	10,8
Гомогенат ткани	Мегатерин	0,07	-
Гомогенат ткани + молочная сыворотка		0,14	11,4

Проведенные исследования показали, что протамекс не оказывал влияния на накопление аминокислот в ферментализате, о чем свидетельствует равенство значений величины аминного азота в ферментализате ткани и ферментализате ткани и молочной сыворотки. По-видимому, внесение в реакционную среду молочной сыворотки и, как следствие, изменение pH изменяет реакционную способность ферментов. Причиной остановки ферментализации может являться также ингибирование активности протеолитического фермента продуктами реакции. В то же время совместный гидролиз гомогената ткани с молочной сывороткой способствовал двукратному увеличению показателя аминного азота. Несмотря на равноэффективность процесса биоконверсии под действием различных ферментов, кинетика процесса значительно различается, что свидетельствует о различной субстратной специфичности исследуемых ферментов.

Основываясь на вышеизложенных данных о безопасности мерценарии и концентрации в её тканях физиологически значимых и биологически активных компонентов, можно рекомендовать использовать мерценарию для производства низкокалорийных пищевых продуктов, в том числе лечебно-профилактических, и БАД к пище.

### Выводы

Проведенным исследованием установлен размерно-массовый состав и выход пучка мягких тканей мерценарии Стипмсона. Показано, что масса мягких тканей моллюска составляет около 15 %, а масса раковины – около 77 % от массы моллюска сырца.

На основании проведенного исследования определено рациональное время гидролиза пучка мягких тканей мерценарии под действием протамекса и мегатерина, которое составляет 2,5–3,0 ч, при минимальной активности фермента 1,7 Е/г.

При разработке технологии комбинированных продуктов на основе мерценарии и молочной сыворотки наиболее эффективно биоконверсия сырья происходит под действием ферментного препарата мегатерин. Показатель накопления аминного азота, свидетельствующий о накоплении аминокислот в гидролизате, при совместном гидролизе гомогената мерценарии и молочной сыворотки увеличивался вдвое.

Таким образом, на основании проведенного исследования обоснована биотехнология двустворчатого моллюска мерценарии Стимпсона с использованием молочной сыворотки, позволяющая получать ферментативные гидролизаты, дополнительно обогащенные аминокислотами.

### Список литературы

1. Давидович, В.В. Исследование субстратной специфичности панкреатических сериновых протеиназ различного происхождения / В.В. Давидович, Ю.М. Позднякова // Сб. тез. конф. молодых ученых ТИНРО. – Владивосток, 1997. – С. 36.
2. Давидович, В.В. Аминокислоты двустворчатых моллюсков: биологическая роль и применение в качестве БАД / В.В. Давидович, Т.Н. Пивненко // Изв. ТИНРО. – 2001. – Т. 129. – С. 146–154.
3. Зюзьгина, А.А. Технохимическая характеристика двустворчатого моллюска анадара «*Anadara broughtoni*» / А.А. Зюзьгина, Н.М. Купина // XXI век – перспективы развития рыбохозяйственной науки: материалы Всерос. Интернет-конф. молодых учёных, Владивосток, ТИНРО-Центр, 13–31 мая 2002 г. – Владивосток: ТИНРО-Центр, 2002. – С. 147–150.
4. Киселев, В.В. Технохимическая характеристика некоторых видов двустворчатых моллюсков / В.В. Киселев, Н.М. Купина // Тез. докл. Всерос. конф. молодых ученых, Мурманск, 23–25 мая 2002 г. – Мурманск, 2002. – С. 94–96.
5. Киселев, В.В. Технохимическая характеристика спизулы сахалинской залива Петра Великого / В.В. Киселев, Н.М. Купина // Изв. ТИНРО. – 2005. – Т. 140. – С. 322–328.
6. Ковалев, Н.Н. Исследование химического состава, пищевой ценности и безопасности мерценарии Стимпсона / Н.Н. Ковалев, Н.М. Купина, Р.В. Есипенко // Рыб. хоз-во. – 2013. – № 4. – С. 132–136.
7. Круглик, В.И. Молекулярно-массовое распределение пептидов в глубоких гидролизатах молочных белков / В.И. Круглик // Продукты питания и рациональное использование сырьевых ресурсов: сб. науч. работ. – Кемерово: КемТИПП, 2007. – Вып. 14. – С. 128–129.
8. Пивненко, Т.Н. Сериновые протеиназы морских организмов: свойства, получение, применение / Т.Н. Пивненко, Н.Н. Ковалев. – Владивосток: Дальрыбвтуз, 2015. – 498 с.

**Сведения об авторах:** Ковалев Николай Николаевич, доктор биологических наук, старший научный сотрудник, профессор, e-mail: kovalevnn61@yandex.ru;  
Есипенко Роман Владимирович, старший преподаватель, e-mail: azt@bk.ru;  
Порваткин Денис Витальевич, студент.