

УДК 577.152.3:597–147.8

О.Я. Мезенова, Н.Ю. Мезенова, Л.С. Байдалинова*

Калининградский государственный технический университет,
236022, г. Калининград, Советский проспект, 1

ГИДРОЛИЗАТЫ РЫБНОЙ ЧЕШУИ В СОСТАВЕ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ДОБАВОК ДЛЯ СПОРТСМЕНОВ

На современном рынке продуктов спортивного питания высоко востребованы биологически активные добавки (БАД) белково-углеводного состава (гейнеры), белковая часть которых представлена активными пептидами. В работе приведена технология новых БАД-гейнеров, в которых в качестве активных пептидов использованы гидролизаты рыбной чешуи сардинеллы и леща. Гидролизаты получены ферментативным путем с применением трех видов ферментов и гидротермическим способом под действием высоких температур под давлением. Изучен аминокислотный состав чешуи леща и сардинеллы. Исследован процесс ферментативного расщепления белка под действием ферментов коллагеназы, кислой и щелочной протеаз в водном экстракте мяты перечной. Получена математическая модель процесса ферментолиза чешуи коллагеназой. Проведена оценка биологической ценности активных пептидов гидролизатов чешуи. Обоснован состав БАД на основе жидкой фракции гидролизованной чешуи, обогащенной ее непроферментированной минерализованной фракцией, пчелиной пыльцой, L-карнитином, экстрактом мяты. Показана технологическая схема изготовления новых гейнеров в желированной форме. Разработаны рекомендации по их применению спортсменами силовых видов спорта.

Ключевые слова: спортивное питание, биологически активные добавки, гейнер, чешуя, активные пептиды, ферменты, гидролизаты.

Mezenova O.Ya., Mezenova N.Yu., Baydalinova L.S. Hydrolyzates of fish scales consisting of biologically active supplements for athletes // *Izv. TINRO.* — 2014. — Vol. 177. — P. 287–294.

The principal component of protein-carbohydrate mixtures for sports nutrition (gainers) are active peptides, usually synthetic ones. New biologically active supplements-gainers are introduced, which use hydrolyzates of fish scales as the active peptides. The raw material for the hydrolyzates is the waste of fishery enterprises in Kaliningrad, in particular the scales of pilchard and bream, that is not utilized yet. The scales contain a valuable collagen protein necessary for bones, ligaments, and muscles of athletes. It can be extracted to the hydrolyzate by enzymatic processing with collagenase and acidic and neutral proteases of microbial origin in water extract of black mint and by hydrothermal processing under high pressure; finally the aqueous fraction of hydrolyzed scale is dried by sublimation method. Amino acid composition

* Мезенова Ольга Яковлевна, доктор технических наук, профессор, заведующая кафедрой, e-mail: mezenova@klgtu.ru; Мезенова Наталья Юрьевна, аспирант, e-mail: lost_13@inbox.ru; Байдалинова Лариса Степановна, кандидат технических наук, доцент, e-mail: baydalinova@newmail.ru.

Mezenova Olga Ya., D.Sc., professor, head of department, e-mail: mezenova@klgtu.ru; Mezenova Natalia Yu., post-graduate student, e-mail: lost_13@inbox.ru; Baydalinova Larisa S., Ph.D., lecturer, e-mail: baydalinova@newmail.ru.

of the bream and pilchard scale is investigated. Biological value of active peptides is assessed for the scale hydrolyzates. Composition of new gainers for sports nutrition is substantiated, that includes the liquid fraction of hydrolyzed scales, crushed mineral fraction of the scales, bee pollen, L-carnitine, and black mint extract; the finished product are the gelled forms of 20–50 g weight. Recommendations of the gainers usage in heavy athletics are substantiated.

Key words: sports nutrition, biological active supplement, gainer, scale, active peptide, enzyme, hydrolyzate.

Введение

Мировой рынок спортивного питания стремительно развивается (Волков, Олейников, 2012). Наиболее востребованы углеводно-белковые смеси, или гейнеры, являющиеся поставщиками эффективной энергии и пластических компонентов, обладающих эргогенным эффектом (Курашвили, 2008). Введение в их состав биологически активных веществ (БАВ) иммуноукрепляющего, антиоксидантного и остеотропного назначения делает их незаменимыми для базового питания спортсменов, которое позволяет им быстро восстанавливаться после повышенных физических нагрузок.

Для достижения быстрого регенерационного эффекта и компенсации пластических нужд в составе гейнеров в качестве источника активных пептидов можно использовать гидролизат рыбной чешуи, представленный в основном пептидами и аминокислотами натурального белка коллагена, играющего важную роль в укреплении опорно-двигательной системы человека. В качестве обогащающих БАВ целевого назначения при этом возможно применение компонентов цветочной пыльцы, экстракта мяты, аминокислоты L-карнитина и минеральной фракции гидролизованной чешуи, совокупность которых способствует достижению функционального эффекта, а также концентрации воли, укреплению организма, снятию стресса, перераспределению жира и другим важным для спортсмена свойствам, а также консервированию композиции.

Цель работы — обоснование композиции и технологии гейнера на основе гидролизованной рыбной чешуи и функциональных БАВ.

Материалы и методы

Объектом исследования послужила рыбная чешуя сардинеллы и леща, которая в настоящее время никак не используется на многих рыбоперерабатывающих производствах Калининградского региона, представляя экологическую и экономическую проблемы. Чешуя рыб богата белком коллагеном, в состав которого входят ценные для спортсмена аминокислоты, полиненасыщенные жирные кислоты омега-3-ряда и минеральные вещества в виде фосфорнокислых и кальциевых солей, усвояемых организмом человека (Marine functional food, 2009; Bioactive marine peptides, 2012). Для извлечения этих компонентов из чешуи целесообразен ее предварительный гидролиз, в результате которого коллаген расщепляется на активные пептиды и аминокислоты, эффективные для поддержки хрящевой ткани и суставов, испытывающих повышенные нагрузки во время занятий спортом.

Перспективный источник углеводов для гейнеров на основе гидролизованной чешуи рыб — пчелиная пыльца, которая не только богата эссенциальными сахарами, но и содержит активные мужские половые гормоны цветущих растений, обуславливающие анаболическое действие, водо- и жирорастворимые витамины, флавоноиды, ответственные за иммунозащитный и антиоксидантный эффекты (Уварова, 2012).

Введение в состав проектируемого гейнера L-карнитина обусловлено его функцией «жирожигателя» (Курашвили, 2008; Волков, Олейников, 2012), позволяющего переводить энергию липидов в мышечную массу.

Для повышения физиологической эффективности получаемой основы БАД, а также биоконсервирования гидролиз чешуи проводили в 10 %-ном спиртовом экстракте мяты перечной, которая потенциально обогащает водную фракцию гидролизата эфирными маслами, флавоноидами, органическими кислотами и другими БАВ, в том числе антистрессового характера (Курашвили, 2008).

Другой вариант гейнеров предусматривал использование сублимационно высушенных водорастворимых обезжиренных и деминерализованных гидролизатов чешуи сардинеллы, которые предварительно получали высокотемпературным гидротермоллизом под давлением в биотехнологическом центре ANiMOX (Адлерсхоф, Берлин).

В работе использовали чешую сардинеллы марокканской, полученную на рыбоконсервном комплексе ОАО «РосКон» (г. Пионерский), и леща балтийского, удаляемую при кулинарной обработке на ОАО «Залив» (п. Взморье). Аминокислотный состав чешуи определяли высокоэффективной хроматографией в Исследовательско-консультационном центре Берлина (Untersuchungs Beratungs Forschungslaboratorium UBF, Атландсберг).

В сырье, полуфабрикатах, готовой спортивной продукции определяли показатели качества стандартными и общепринятыми методами. Согласно ГОСТу 7636-85 анализировали массовые доли воды, золы, белка, жира, формольнотитруемого (аминного) азота (ФТА). Для органолептической оценки новой БАД использовали метод профилирования по 5-балльной шкале.

Анализ жирнокислотного состава липидов чешуи сардинеллы выполняли методами эффективной жидкостной хроматографии в университете г. Бремерхафена (Германия).

Оптимальные значения факторов ферментативного гидролиза устанавливали с применением методов математического планирования экспериментов, а именно ортогонального центрального композиционного плана второго порядка. Социологический опрос востребованности новых БАД спортивного питания, а также его профиля проводили через социальные сети и экспертизой пунктов реализации г. Калининграда (магазинов, интернет-порталов). Статистическую обработку данных вели общепринятыми методами.

Результаты и их обсуждение

Анализ представленных на калининградском рынке продуктов спортивного питания, проведенный экспертами через специализированные магазины и интернет-портал, показал, что 87,3 % БАД имеют импортное происхождение, при этом 100 % гейнеров представлено зарубежными препаратами.

Статистические методы опроса свидетельствуют, что 73 % респондентов (спортсмены скоростно-силовых видов спорта) согласны употреблять новую биодобавку-гейнер на основе натуральных компонентов гидролизатов чешуи.

Оценка химического состава высушенной чешуи сардинеллы (содержание воды 11,4 %) показала, что 50,5 % массы составляет белок, 36,0 % — минеральные вещества, 2,1 % — липиды.

Аминокислотный состав высушенной чешуи двух видов рыб представлен в табл. 1.

Из данных табл. 1 видно, что белковая фракция чешуи леща и сардинеллы является источником многих незаменимых и ценных заменимых аминокислот, важных для организма спортсмена. Основными по массе аминокислотами обоих видов гидролизата являются (% массы азотистой части): глицин (26,0–29,4), аланин (10,0–11,2), глутаминовая кислота (6,9–8,5), серин (2,9–9,1), пролин и гидроксипролин (соответственно 6,9–11,7 и 4,33–10,70), таурин (2,2), что подтверждается литературными данными (Marine functional food, 2009; Bioactive marine peptides, 2012). Данные аминокислоты необходимы людям, занимающимся спортом, прежде всего для поддержания опорно-двигательного аппарата (Курашвили, 2008; Волков, Олейников, 2012).

Оценку биологической ценности белков чешуи вели относительно «идеального» белка, рассчитывая аминокислотный скор (%); избыточное количество незаменимых аминокислот рассчитывали по коэффициенту различия аминокислотных скоров (%), а через него определяли биологическую ценность (%). Рациональности аминокислотного состава считали по коэффициенту рациональности аминокислотного состава (в долях единицы) и показателю сопоставимой избыточности (мг/г белка) (Биотехнология ..., 2013). Значения данных характеристик приведены в табл. 2.

Таблица 1

Аминокислотный состав белков чешуи леща и сардинеллы

Table 1

Amino acid composition of scale proteins for bream and pilchard

Аминокислота	Содержание аминокислоты в сухой чешуе			
	леща		сардинеллы	
	г/100 г белка	г/100 г чешуи	г/100 г белка	г/100 г чешуи
Аланин	9,96	6,84	11,2	5,6
Аргинин	4,33	2,98	7,9	4,0
Аспарагин	1,30	0,89	0,1	0,1
Аспарагиновая кислота	7,79	5,36	4,9	2,5
Карнозин			0,1	0,01
Цистин	0,87	0,60	0	0
Глютамин	1,30	0,89	0,8	0,4
Глютаминная кислота	6,93	4,76	8,5	4,3
Глицин	29,44	20,23	26,0	13,1
Гистидин	2,16	1,49	1,2	0,6
Гидроксипролин	4,33	2,98	10,7	4,4
Лейцин (н)	1,73	1,19	2,7	1,3
Изолейцин (н)	0	0	1,0	0,5
Лизин (н)	2,16	1,49	4,0	2,0
Метионин (н)	1,73	1,19	0	0
Фенилаланин (н)	2,60	1,79	2,2	1,1
Фосфоэтанолламин	0,43	0,30	0	0
Пролин	6,93	4,76	11,7	5,9
Серин	9,09	6,25	2,9	1,5
Таурин	2,16	1,49	0	0
Треонин (н)	2,60	1,79	2,1	1,1
Тирозин	1,73	1,19	0,6	0,3
Валин (н)	0,43	0,30	1,5	0,8
Сумма незаменимых аминокислот	11,25	7,75	13,5	6,8

Примечание. н — незаменимая аминокислота.

Таблица 2

Биологическая ценность белков чешуи исследуемых рыб

Table 2

Biological value of scale proteins for studied fish species

Незаменимая аминокислота	Содержание аминокислоты в эталонном белке (ФАО ВОЗ), г/100 г белка	Чешуя леща		Чешуя сардинеллы	
		Содержание аминокислоты, г/100 г белка	Аминокислотный скор, %	Содержание аминокислоты, г/100 г белка	Аминокислотный скор, %
Лейцин	4,8	1,73	36,04	2,7	56,25
Лизин	4,2	2,16	51,43	4,0	95,24
Изолейцин	4,2	0	0	1,0	23,80
Метионин	2,9	1,73	41,19	0	0
Фенилаланин	2,8	2,60	92,86	2,2	78,57
Треонин	2,8	2,60	92,86	2,1	78,57
Триптофан	1,4	0	0	0	0
Валин	4,2	0,43	10,24	1,5	33,33
Сумма	27,3	11,25		13,25	
Коэффициент различия аминокислотных скоров, %		44,53		37,16	
Биологическая ценность, %		55,47		62,84	
Коэффициент рациональности аминокислотного состава		0,20		0,41	

Приведенные в табл. 2 значения коэффициентов свидетельствуют о достаточно высокой биологической ценности белков чешуи леща (55,5 %) и сардинеллы (62,8 %),

однако аминокислотные скоры у многих незаменимых аминокислот были недостаточными для вывода о полноценности белкового питания (10,2–95,3 %), что отражено в значениях коэффициентов различия аминокислотных скоров (44,5–37,2) и рациональности аминокислотного состава (0,2–0,4).

Полученные данные свидетельствует о рациональности введения в состав проектируемого гейнера для повышения сбалансированности белково-пептидной фракции по скору пчелиной пыльцы, богатой незаменимыми аминокислотами (Уварова, 2012). В пчелиной пыльце содержатся все природные заменимые и незаменимые аминокислоты, особенно преобладают лейцин (7,10–9,00 %), лизин (6,30–7,70 %) и валин (5,80–11,20 %).

Ценность цветочной пыльцы в составе гейнера заключается также в наличии в ней эссенциальных высокоусвояемых углеводов (фруктоза, галактоза, рабиноза, лактоза и др.), составляющих 20–28 % ее массы, а также целого комплекса БАВ эргогенного действия, представленных прежде всего в активных мужских половых органах цветущих растений (Курашвили, 2008).

Ценность рыбной чешуи в составе гейнеров обусловлена также ее липидной составляющей. Анализ жирнокислотного состава липидов чешуи сардинеллы, выполненный в университете г. Бремерхафена, показал, что в них содержится полиненасыщенных жирных кислот 6,4 % массы, причем на долю эйкозопентаеновой кислоты приходится 5,8 %. Это свидетельствует о рациональности присутствия в составе гейнера липидной фракции, которая при ферментативном гидролизе переходит в водную фракцию.

При отыскании оптимальных режимов гидролиза ферментативным путем проводили специальные эксперименты, на первом этапе которых исследовали применение различных ферментов с дозировкой 2 % к массе чешуи. При этом активность ферментативного распада белков (эффективность гидролиза) определяли по содержанию аминного азота (показатель ФТА) (табл. 3).

Таблица 3
Глубина гидролиза чешуи сардинеллы под действием различных ферментов
(температура — 37 °С)

Rate of hydrolysis for the pilchard scales processed by certain enzymes
under the temperature 37 °C

Table 3

Фермент, протеолитическая активность	Содержание аминного азота, мг/100 г при продолжительности гидролиза	
	24 ч	48 ч
Коллагеназа, 172 ед./мг	804,6	892,7
Кислая протеаза, 600 ед./мл	225,3	246,2
Нейтральная протеаза, 600 ед./мл	160,9	209,9

Из данных табл. 3 следует, что наибольшей активностью по отношению к белкам чешуи обладает коллагеназа, а рациональная продолжительность гидролиза — 48 ч (содержание аминного азота достигает 81,2 мг/100 г).

При математической оптимизации процесса гидролиза чешуи сардинеллы коллагеназой в качестве основных факторов были выбраны X_1 — количество вносимого фермента коллагеназы — и X_2 — гидромодуль (водной фракцией являлся экстракт мяты). В качестве параметров оптимизации использовали обобщенный параметр, в состав которого вошли частные отклики: \dot{Y}_1 — содержание ФТА, мг/г чешуи, и \dot{Y}_2 — содержание сухих веществ в гидролизате, г/100 г. Обобщение частных откликов вели по методике «приближение к идеалу», при этом в качестве «идеальных» были обобщенно приняты $Y_{10} = 1,3$ мг/г и $Y_{20} = 30$ %.

Реализация эксперимента по матрице центрального композиционного ортогонального плана второго порядка для двух факторов и обработка полученных данных позволили определить следующий вид натуральной математической модели процесса ферментализации коллагеназой чешуи сардинеллы:

$$Y = -1,9369 + 1,0227X_1 - 0,1236X_2 - 0,049X_1X_2 - 0,082X_1^2 + 0,00062X_2^2.$$

Геометрическая интерпретация модели представлена на рис. 1.

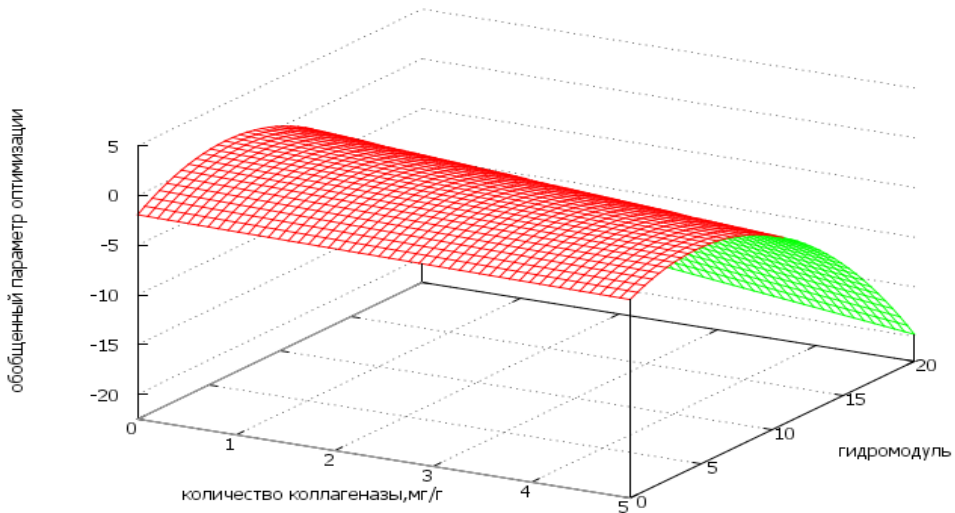


Рис. 1. Геометрическая модель процесса гидролиза чешуи сардинеллы
Fig. 1. Geometric model of hydrolysis for the pilchard scales

Математическая обработка модели показала, что оптимальными значениями дозировки фермента и величины гидромодуля являются соответственно $X_1 = 2,79$ мг/г, $X_2 = 11,44$.

Для спортивного питания рекомендуются пептиды с молекулярной массой 50 кДа и менее (Волков, Олейников, 2012). Поэтому при проектировании композиции нового гейнера было целесообразно использовать сублимированные гидролизаты сушеной и мороженой чешуи сардинеллы, полученные гидротермическим путем (Адлерсхоф, Германия, биотехнологический центр ANiMOX), фракционный состав которых соответствовал данному требованию. Содержание низкомолекулярных пептидов в гидролизатах мягкого режима гидротермолиза составило: 20–50 кДа — 24,6 %, 10–20 кДа — 22,8 %, 5–10 кДа — 18,2 % и 1–5 кДа — 13,8 %. Фракционный состав гидролизатов сильного режима гидротермолиза: 1–5 кДа — 36,3 %, 5–10 кДа — 31,4 %, 10–20 кДа — 17,9 %, 20–50 кДа — 6,5 %. Содержание в гидролизатах оксипролина, как индикатора глубины гидролиза, составило во всех случаях 8,64–9,20 % массы чешуи (или 8,89–9,47 % массы белка). Химический состав сублимированных гидролизатов чешуи составлял при абсолютном обезвоживании 96,6–98,5 % протеина; 0,90–1,36 липидов; 1,24–2,03 % минеральных веществ.

Термогидролизаты сублимационной сушки представляли собой мелкодисперсный светлый порошок с характерным, но слабо выраженным рыбным запахом, без порочащих признаков. Введение их в состав специализированных гейнеров с предварительным растворением в водном экстракте мяты позволило изготовить опытные образцы гейнеров, которые по общему химическому составу и органолептическим признакам были идентичны БАД, полученным на основе ферментолитатов рыбной чешуи.

При обосновании технологии гейнеров жидкие ферментолитаты чешуи фильтровали и водную фракцию, представляющую собой вязкий раствор со специфическим запахом, использовали в качестве основы биодобавки, в которую вводили цветочную пыльцу, аминокислоту L-карнитин, CO_2 — экстракт мяты (если ферментолит не проводили в экстракте мяты), тонко измельченный непроферментированный остаток чешуи (в качестве источника кальция и фосфора). Для придания формы и «укупоривания» рыбного запаха в композицию вводили желатин, который в качестве структурообразователя обеспечивал формирование желированной консистенции, придавая БАД вид «желатинки».

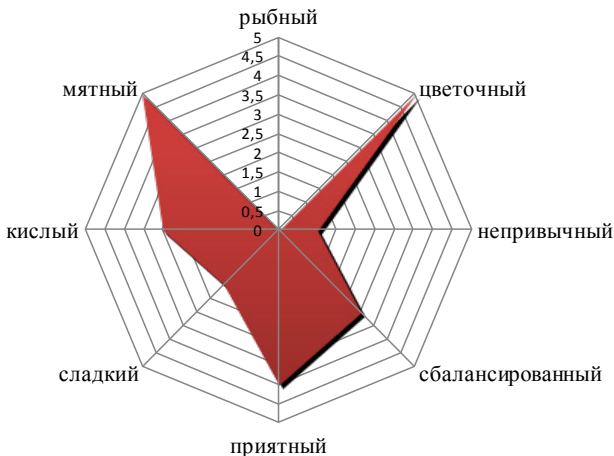
Исследования химического состава готовой продукции показали, что новая биодобавка, названная «SportBS», представляет собой обогащенную белково-углеводную

смесь, которую можно отнести к классу гейнеров базового спортивного питания: содержание белков, углеводов, липидов, минеральных веществ и воды составляет соответственно: 19,8; 13,1; 1,4; 3,3; 62,5 %. Благодаря содержанию активных веществ данный гейнер потенциально обладает анаболическим эффектом, а за счет ценных БАВ цветочной пыльцы, мяты, L-карнитина и твердого остатка чешуи он способствует проявлению иммуномодулирующего, остеотропного и антиокислительного действий.

Метод профилирования по 5-балльной шкале (рис. 2) выявил приоритетную вы-
раженность в гейнерах цветочно-мятных оттенков.

Рис. 2. Профилограмма аромата и вкуса при разжевывании биодобавки на основе рыбной чешуи, пчелиной пыльцы и L-карнитина «SportBS»

Fig. 2. Aroma and flavor profi-
grams for chewing of the biologically
active supplement SportBS based on fish
scales, bee pollen, and L-carnitine



Как видно на рис. 2, органолептическая оценка рекомендуемой биодобавки приятная, что позволяет употреблять ее без принуждения.

Апробированы способы повышения вкусо-ароматических свойств путем применения корригентов (варьирование в ее составе дозировок пыльцы и компонентов мяты), позволяющие сделать вывод о возможности расширения итоговых вкусо-ароматических свойств, цвета и биологической ценности новой биодобавки.

Проведенные исследования позволили предложить технологическую схему новой биодобавки «SportBS» (рис. 3).

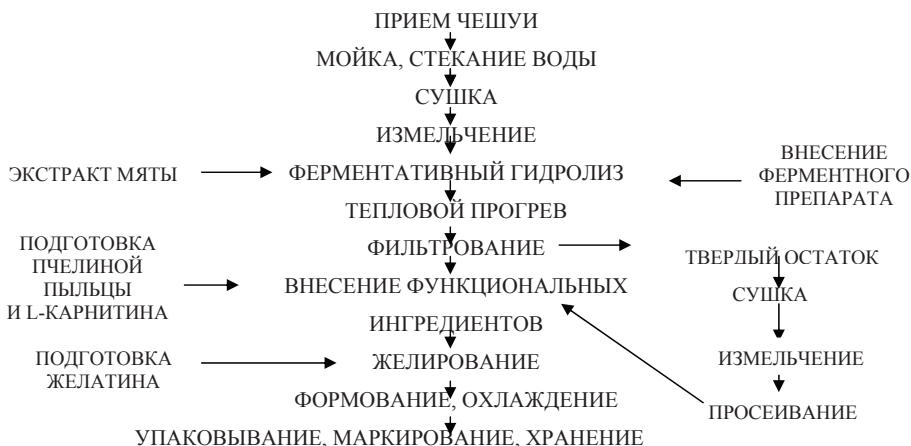


Рис. 3. Технологическая схема биодобавки «SportBS»

Fig. 3. Technological flowsheet for the biologically active supplement SportBS

С учетом химического состава биодобавки данные гейнеры рекомендовано употреблять спортсменам скоростно-силовых видов спорта систематически 2 раза в день, по 50 г за один раз приема, в промежутках между тренировками.

Результаты проведенных исследований свидетельствуют о перспективности применения гидролизатов рыбной чешуи, содержащих активные пептиды, в составе натуральных продуктов спортивного назначения.

Выводы

Перспективно применение гидролизатов рыбной чешуи, содержащих активные пептиды, ценные жиры и минеральные вещества, в составе натуральных белково-углеводных добавок спортивного назначения.

Аминокислотный состав белков чешуи леща и сардинеллы, жирнокислотный состав липидов чешуи сардинеллы свидетельствуют о наличии ценных биологически активных компонентов, эффективных для поддержания опорно-двигательного аппарата человека.

Изучение и математическая оптимизация процесса ферментативного гидролиза чешуи сардинеллы в экстракте мяты свидетельствуют о наибольшей рациональности использования фермента коллагеназы.

Установлена целесообразность обогащения гидролизатов рыбной чешуи цветочной пыльцой, L-карнитином, экстрактом мяты, тонко измельченным непроферментированным остатком рыбной чешуи.

Выявлены органолептические особенности новой биодобавки, имеющей вид желированных упругих форм, приятные характерные привкусы.

Эффективность внедрения предложенной технологической схемы изготовления биодобавки, названной «SportBS», обусловлена доступностью сырья и простотой технологии. В ходе исследования разработаны рекомендации для употребления биодобавки спортсменами скоростно-силовых видов спорта.

Список литературы

Биотехнология рационального использования гидробионтов : учеб. / под ред. О.Я. Мезеновой. — СПб. : Лань, 2013. — 416 с.

Волков Н.И., Олейников В.И. Эргогенные эффекты спортивного питания : монография. — М. : Сов. спорт, 2012. — 99 с.

Курашвили В.А. Роль биологически активных добавок в системе подготовки спортсменов : метод. пособие. — М., 2008. — 116 с.

Уварова Л.М. Разработка технологии пробиотических творожных сырков, обогащенных цветочной пыльцой : автор. дис. ... канд. техн. наук. — Благовещенск, 2012. — 7 с.

Bioactive marine peptides / ed. S.K. Kim. — Tokyo, Japan : Academic Publishers Tokyo University of Marine Science and Technology, 2012. — 132 p.

Marine functional food / ed. J.B. Luten. — The Netherlands : Wageningen Academic Publishers, 2009. — 174 p.

Поступила в редакцию 21.03.14 г.