

## ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОЦЕССА ФЕРМЕНТАТИВНОГО ВЫДЕЛЕНИЯ ЖИРА ИЗ ВТОРИЧНОГО РЫБНОГО СЫРЬЯ ДЛЯ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ В КАЧЕСТВЕ БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКОГО СУБСТРАТА

О.Я. Мезенова<sup>1</sup>, [mezenova@klgtu.ru](mailto:mezenova@klgtu.ru), <https://orcid.org/0000-0002-4716-2571>  
С.В. Агафонова<sup>1</sup>, [svetlana.agafonova@klgtu.ru](mailto:svetlana.agafonova@klgtu.ru), <https://orcid.org/0000-0002-5992-414X>  
Н.Ю. Романенко<sup>1</sup>, [nataliya.mezenova@klgtu.ru](mailto:nataliya.mezenova@klgtu.ru), <https://orcid.org/0000-0002-7433-7189>  
Н.О. Жила<sup>2</sup>, [nzhila@mail.ru](mailto:nzhila@mail.ru), <https://orcid.org/0000-0002-6256-0025>  
Н.С. Калинина<sup>1</sup>, [natalya.kalinina@klgtu.ru](mailto:natalya.kalinina@klgtu.ru), <https://orcid.org/0000-0003-0942-5411>  
В.В. Волков<sup>1</sup>, [vladimir.volkov@klgtu.ru](mailto:vladimir.volkov@klgtu.ru), <https://orcid.org/0000-0001-5560-7131>  
Л.В. Дамбарович<sup>1</sup>, [leodambarovich@yandex.ru](mailto:leodambarovich@yandex.ru), <https://orcid.org/0000-0002-6015-1869>

<sup>1</sup> Калининградский государственный технический университет, Калининград, Россия

<sup>2</sup> Институт биофизики СО РАН, Красноярск, Россия

**Аннотация.** Актуальность использования рыбного жира из вторичного рыбного сырья в микробиологическом синтезе в качестве субстрата для получения белков и биодegradируемых пластиков обусловлена его ценными свойствами и востребованностью данных биопродуктов. Рыбный жир отличается жидкой консистенцией, повышенным содержанием длинноцепочечных полиненасыщенных жирных кислот, но при этом быстро подвергается гидролизу и окислению. В работе исследован ферментативный способ выделения жира из голов копченой кильки и скумбрии, внутренностей судака при обработке тремя видами протеолитических ферментов (алкалаза, протосубтилин, протозим). Ферментализация позволяет выделять 44–63,4 % жира от его содержания в сырье при обоснованных рациональных режимах: температура 40–50 °С; продолжительность 30–40 минут; дозировка ферментов 0,2–0,4 % к массе сырья. Изучено качество выделяемых жиров по показателям кислотного и перекисного чисел. Во всех образцах установлено наличие продуктов гидролиза и окисления, в наименьшей степени – в жирах из шпротных отходов (КЧ 6,2–6,7 мг КОН/1 г; ПЧ 9,0–18,7 ммоль акт. кисл./кг), в наибольшей степени – в жирах скумбрии (КЧ 14,5–18,8 мг КОН/1 г; ПЧ 43,7–164,7 ммоль акт. кисл./кг). Исследован жирнокислотный состав ферментативно извлеченных рыбных жиров. Показано преобладание в жирах длинноцепочечных жирных кислот (63,6–68,3 % от суммы всех ЖК) при высоком содержании ПНЖК (23,7–47,8 %). Сравнение значений показателей качества экстрагированных жиров с опубликованными данными позволяет считать их перспективным источником углерода для использования в качестве биотехнологического субстрата в микробном синтезе белка и биоразрушаемых пластиков полигидроксиалканоатов.

**Ключевые слова:** жиросодержащие рыбные отходы, ферментализация, рыбный жир, кислотное число, перекисное число, жирнокислотный состав, продукты биотехнологии, микробный синтез, субстрат, белок одноклеточных, полигидроксиалканоаты

**Благодарности.** Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 23-64-10007, <https://rscf.ru/project/23-64-10007/>

**Для цитирования:** Исследование процесса ферментативного выделения жира из вторичного рыбного сырья для использования в качестве биотехнологического субстрата / О.Я. Мезенова, С.В. Агафонова, Н.Ю. Романенко и др. // Вестник ЮУрГУ. Серия «Пищевые и биотехнологии». 2024. Т. 12, № 4. С. 62–73. DOI: 10.14529/food240407

Original article

DOI: 10.14529/food240407

## RESEARCH OF THE PROCESS OF ENZYMATIC EXTRACTION OF FAT FROM SECONDARY FISH RAW MATERIALS FOR USE AS A BIOTECHNOLOGICAL SUBSTRATE

O.Ya. Mezenova<sup>1</sup>, mezenova@klgtu.ru, <https://orcid.org/0000-0002-4716-2571>

S.V. Agafonova<sup>1</sup>, svetlana.agafonova@klgtu.ru, <https://orcid.org/0000-0002-5992-414X>

N.Yu. Romanenko<sup>1</sup>, nataliya.mezenova@klgtu.ru, <https://orcid.org/0000-0002-7433-718>

N.O. Zhila<sup>2</sup>, nzhila@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-6256-0025>

N.S. Kalinina<sup>1</sup>, natalya.kalinina@klgtu.ru, <https://orcid.org/0000-0003-0942-5411>

V.V. Volkov<sup>1</sup>, vladimir.volkov@klgtu.ru, <https://orcid.org/0000-0001-5560-7131>

L.V. Dambarovich<sup>1</sup>, leodambarovich@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-6015-1869>

<sup>1</sup> Kaliningrad State Technical University, Kaliningrad, Russia

<sup>2</sup> Institute of Biophysics of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences,  
Krasnoyarsk, Russia

**Abstract.** The relevance of using fish oil from secondary fish raw materials in microbiological synthesis as a substrate for the production of proteins and biodegradable plastics is due to its valuable properties and the demand for these bioproducts. Fish oil has a liquid consistency and a high content of long-chain polyunsaturated fatty acids, but is quickly subject to hydrolysis and oxidation. The work investigated an enzymatic method for extracting fat from the heads of smoked sprat and mackerel, and the insides of pike perch when treated with three types of proteolytic enzymes (alcalase, protosubtilin, protozyme). Enzymolysis allows you to isolate 44–63.4 % of fat from its content in raw materials under reasonable rational conditions: temperature 40–50 °C; duration 30–40 minutes; enzyme dosage is 0.2–0.4 % by weight of raw materials. The quality of secreted fats was studied in terms of acid and peroxide numbers. In all samples, the presence of hydrolysis and oxidation products was established, to the least extent – in fats from sprat waste (CN 6.2–6.7 mg KOH/1 g; CN 9.0–18.7 mmol active oxygen/kg), to the greatest extent – in mackerel fats (CN 14.5–18.8 mg KOH/1 g; CN 43.7–164.7 mmol active oxygen/kg). The fatty acid composition of enzymatically extracted fish oils was studied. The predominance of long-chain fatty acids in fats was shown (63.6–68.3 % of the sum of all FAs) with a high content of PUFAs (23.7–47.8 %). Comparison of the quality indicators of extracted fats with published data allows us to consider them a promising carbon source for use as a biotechnological substrate in the microbial synthesis of protein and biodegradable polyhydroxyalkanoate plastics.

**Keywords:** fat-containing fish waste, fermentolysis, fish oil, acid value, peroxide value, fatty acid composition, biotechnology products, microbial synthesis, substrate, unicellular protein, polyhydroxyalkanoates

**Acknowledgments.** The study was supported by the Russian Science Foundation grant No. 23-64-10007, <https://rscf.ru/project/23-64-10007/>

**For citation:** Mezenova O.Ya., Agafonova S.V., Romanenko N.Yu., Zhila N.O., Kalinina N.S., Volkov V.V., Dambarovich L.V. Research of the process of enzymatic extraction of fat from secondary fish raw materials for use as a biotechnological substrate. *Bulletin of the South Ural State University. Ser. Food and Biotechnology*, 2024, vol. 12, no. 4, pp. 62–73. (In Russ.) DOI: 10.14529/food240407

### Введение

Вторичное рыбное сырье (рыбные отходы), как правило, отличается повышенной жирностью, при этом содержащийся в нем жир является источником физиологически активных полиненасыщенных жирных кислот

(ПНЖК), в том числе уникальных эйкозапентаеновой (ЭПК) и докозагексаеновой жирных кислот (ДГК) семейств омега 3, а также жирорастворимых витаминов (А, D, E, К) [1–3]. Однако из-за высокой ненасыщенности жирных кислот рыбный жир быстро подвергается

гидролитическим и окислительным изменениям, необратимо портится, что не позволяет его в подпорченном состоянии применять в пищевых или кормовых целях [1, 4]. Представляется перспективным использование жира из рыбных отходов в качестве субстрата для получения продуктов биотехнологии.

В Калининградской области вырабатывается около 50 % всех стерилизованных рыбных консервов из местного и океанического сырья (балтийская килька (шпрот), балтийская сельдь (салака), лещ, судак, треска, корюшка и др.). В технологическом процессе при разделке рыбы удаляется от 50 до 70 % массы сырья (головы, внутренности, плавники), которые содержат от 4 до 30 % жира. В настоящее время эти отходы практически не перерабатываются, а передаются аграрным хозяйствам по бросовым ценам или утилизируются [5].

Особенно много рыбных отходов накапливается на крупных рыбзаводах области (СПК «За Родину» и ООО «РосКон»), выпускающих консервы «Шпроты в масле» из балтийской кильки горячего копчения и другие консервы. В среднем в сутки только на данных предприятиях накапливается 10–12 тонн голов копченой кильки, 2–3 тонны голов скумбрии и примерно 500 кг внутренностей судака. При этом ежедневно 6–8 тонн голов копченой кильки вывозятся на мусорные полигоны, где безвозвратно уничтожаются 1,2–1,5 тонн натурального рыбного жира и 1,6–1,8 тонн полноценного протеина [5, 6].

С учетом ценного химического состава жиросодержащих рыбных отходов актуальным является извлечение из них жира рациональным способом и его обоснованное использование в биотехнологии с учетом показателей качества. Традиционным способом извлечения жира из рыбных тканей является термический, при котором под действием высоких температур идет разрушение оболочек жировых клеток, и жир самотеком из них вытекает [7]. Для высоко минерализованных коллагенсодержащих рыбных тканей (головы, хребты, плавники) перспективным является ферментативный (биотехнологический) способ экстракции жира, предусматривающий обработку сырья протеолитическими ферментами, гидролизующими оболочки жировых клеток [3, 8, 9]. При этом температура среды не превышает 50–60 °С, а остающаяся обезжиренная белково-минеральная часть биомас-

са может быть использована для кормовых целей, например, получения белковых добавок [10]. В связи с высокой склонностью рыбного жира из отходов к порче перспективно жир пониженного качества использовать в качестве источника углерода для биотехнологического синтеза белков и биоразлагаемых пластиков – полигидроксиалканоатов (ПГА). Это направление становится все более популярным в промышленной биотехнологии [11–14]. Биополимеры ПГА обладают высокими технологическими свойствами, а их получение на основе рыбного жира является рациональным путем утилизации рыбных отходов [15, 16]. Положительными факторами для микробного синтеза ПГА являются жидкая консистенция рыбного жира и высокое содержание длинноцепочечных жирных кислот с высокой степенью непредельности. В жире из отходов балтийской кильки, скумбрии и судака содержится от 21 до 46 % ПНЖК, при этом 15–48 % от массы ПНЖК приходится на уникальные ЭПК и ДГК [17].

К ПГА относится достаточно большая группа алифатических полиэфиров, представляющих собой биodeградируемые полимеры, накапливающиеся в различных микроорганизмах в условиях ограниченного роста [12, 14, 18]. Главными свойствами ПГА являются их биосовместимость, биodeградируемость, а также возможность синтеза из возобновляемых источников. ПГА находят применение в качестве упаковочных материалов, в медицине для изготовления биосовместимых протезов, шовных материалов и перевязочных средств, систем доставки лекарственных препаратов, реконструкции тканей, создания искусственных органов и др. [13, 15].

Сдерживающим фактором в производстве ПГА является их высокая стоимость, обусловленная стоимостью сырья. В качестве субстратов для культивирования ПГА-синтезирующих микроорганизмов используются углекислый газ, водород, сахара, спирты, органические кислоты, отходы спиртовой и сахарной промышленности [12, 15, 18]. Перспективным сырьем для производства ПГА представляется жир, извлекаемый ферментативным способом из недоиспользуемых рыбных отходов [19, 20].

Целью настоящего исследования являлось исследование ферментативного способа выделения жира из жиросодержащих рыбных отходов (голов копченой кильки и скумбрии,

внутренностей судака), обоснование рациональных режимов ферментации, при которых выход жира из сырья будет максимальным, а его показатели качества потенциально пригодными для микробиологического синтеза белков и ПГА.

Для достижения поставленной цели исследовали влияние различных протеолитических ферментов и основных факторов ферментации рыбных отходов (дозировки ферментов, температуры и продолжительность обработки) на полноту извлечения жира, его показатели гидролитических и окислительных изменений, а также жирнокислотный состав.

#### Объекты и методы исследования

Объектами исследования являлись головы копченой кильки и скумбрии атлантической, внутренние органы судака, накапливающиеся в качестве отходов на рыбоконсервных заводах СПК «За Родину» и АО «Калининградский тарный комбинат», а также жир, выделенный из них.

В рыбных отходах определяли содержание воды, белка, жира и минеральных веществ по методикам, регламентированным в ГОСТ 7636. Оценку кислотного и перекисного чисел извлеченного жира проводили по ГОСТ 7631.

Ферментативный процесс выделения жира осуществляли с применением протеолитических ферментов алкалаза (Novozymes, Дания), протосубтилин и протозим (Сиббиофарм, Россия). Эти протеазы обладают высокой гидролизующей способностью при небольших дозировках, при этом количество белково-жировой эмульсии, снижающей выход жира, минимальное. Для извлечения жира сырье измельчали, смешивали с водой в соотношении 1:1 и определенным количеством фермента (0,1–0,4 % к массе сырья), систему выдерживали при температуре от 40 до 60 °С при постоянном перемешивании в течение заданного времени (30–90 мин). По окончании процесса фермент инактивировали нагреванием до 80 °С, экстрагированный жир выделяли центрифугированием и декантированием, после чего взвешивали.

Определение жирнокислотного состава жира проводили общепринятыми методами липидологии, реализуя следующие процедуры: к капле жира добавляли 1 мл смеси метанола и серной кислоты (50:1 по объему). Метанолиз проводили при температуре 90 °С

в течение 2 ч. Затем добавляли 2 мл дистиллированной воды и метиловые эфиры жирных кислот трижды экстрагировали гексаном. Полученные экстракты пропускали через безводный  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ . Растворитель удаляли на вакуумном роторном испарителе. Метиловые эфиры жирных кислот анализировали на хромато-масс-спектрометре Agilent Technologies 7890A с масс детектором Agilent Technologies 5975C («Agilent», США).

Количественные данные статистически обрабатывали с использованием пакетов прикладных программ Microsoft Excel 2010 и Statistica 6.0.

#### Результаты и их обсуждение

Содержание жира и других органических веществ в исследованных рыбных отходах приведено в табл. 1. Видно, что все непищевые части данных видов рыб содержат достаточно много липидов (от 14,9 % у скумбрии до 42,1 % во внутренностях судака), что обусловливает рациональность их извлечения и полезного использования. При этом обезжиренная часть сырья, содержащая от 17,3 % до 18,3 % протеина и 1,2–5,8 % минеральных веществ, является перспективным источником белково-минеральных веществ.

Результаты экспериментов по выделению жира из различных рыбных отходов, полученные при обработке различными видами ферментов при различных условиях, приведены в табл. 2.

Из данных табл. 2 следует, что при обработке алкалазой для достижения максимального выхода жира из различного сырья при минимизации протеолитических и окислительных изменений рациональными режимами ферментализации можно считать температуру 50–60 °С, продолжительность 60 минут, дозировку фермента 0,05–0,5 % к массе сырья. В данном случае выход жира у шпротных отходов составляет 13–14 % от массы сырья; у голов скумбрии 6,5–7,5 %; у внутренностей судака 18–19 %, что сравнимо по количеству с традиционным термическим способом получения рыбного жира [7, 17]. Показатели изменения качества жира при этом в разных партиях очень различны, что обусловлено природой жира, исходным качеством сырья, а также наличием предварительной термической обработки у шпротных отходов, которые прошли горячее копчение. Кислотное и перекисное числа жира при названных режимах

Таблица 1

Общий химический состав исследованных рыбных отходов

Вид рыбного сырья	Содержание компонентов, %			
	вода	липиды	протеин	минеральные вещества
Головы скумбрии	62,4	14,9	18,6	4,1
Головы копченой кильки	55,6	21,3	18,3	5,8
Внутренние органы судака	39,2	42,1	17,3	1,2

Таблица 2

Показатели выхода жира из различных рыбных отходов, его кислотное число (КЧ) и перекисное числа (ПЧ) при обработке различными ферментами при различных технологических параметрах

Дозировка фермента, % к массе сырья	Время ферментализации, мин	Температура, °С	Выход жира, % массы сырья	КЧ, мг КОН /г	ПЧ, ммоль активного кислорода /кг
<i>Фермент алкалаза</i>					
Головы копченой кильки					
0,075	90	60	13,2	6,7	18,7
0,05	60	50	13,8	6,6	11,4
0,025	30	40	14,1	6,2	9,0
Головы скумбрии					
0,6	90	60	7,8	18,1	56,1
0,4	60	50	6,8	20,8	75,0
0,2	30	40	6,4	14,8	63,3
Внутренние органы судака					
0,5	90	60	18,6	19,3	14,6
0,35	60	50	16,9	6,4	7,9
0,2	30	40	19,4	20,4	17,3
<i>Фермент протозим</i>					
Головы копченой кильки					
0,4	90	60	12,6	7,4	25,3
0,25	60	50	13,0	7,2	37,0
0,1	30	40	12,6	5,8	45,6
Головы скумбрии					
0,6	90	60	7,6	14,5	51,0
0,4	60	50	5,4	15,7	43,7
0,2	30	40	4,2	18,8	164,7
Внутренности					
0,5	90	60	24,1	18,3	78,1
0,35	60	50	24,8	17,5	61,1
0,2	30	40	25,8	17,35	72,5

Окончание табл. 2

Дозировка фермента, % к массе сырья	Время ферментации, мин	Температура, °С	Выход жира, % массы сырья	КЧ, мг КОН /г	ПЧ, ммоль активного кислорода /кг
<i>Фермент протосубтилин</i>					
Головы копченой кильки					
0,4	90	60	11,2	7,6	29,5
0,25	60	50	13,0	6,9	39,3
0,1	30	40	12,6	5,9	34,1
Головы скумбрии					
0,6	90	60	5,8	14,8	48,5
0,4	60	50	5,6	14,7	46,0
0,2	30	40	4,2	17,6	129,6
Внутренности судака					
0,5	90	60	27,4	18,5	57,7
0,35	60	50	24,6	17,1	49,5
0,2	30	40	24,04	17,5	42,7

обработки имеют следующие значения: соответственно килечный жир: 6–7 мг КОН/г и 10–11 ммоль акт. кислорода /кг жира; скумбриевый жир: 15–16 мг КОН/г и 60–65 ммоль акт. кислорода /кг жира; судачный жир: 8–10 мг КОН/г и 10–12 ммоль акт. кислорода /кг жира.

Аналогичные результаты по значениям выхода, кислотных и перекисных чисел показали образцы жира, выделенные при обработке ферментами протозим и протосубтилин (см. табл. 2). При этом под действием данных ферментов относительно обработки алкалозой отмечена следующая зависимость: количественный выход жира повышается из внутренностей судака на 12–18 % (в шпротных и скумбриевых головках не повышается), а качество жиров скумбрии и судака ухудшается. Показатели кислотного числа у скумбрии растут на 21–34 %, а перекисного числа – на 36,1 % (протозим) и 60 % (протосубтилин). Отмечена следующая особенность при обработке скумбрии: чем ниже дозировка фермента, температура и время ферментации, тем глубже идут окислительные изменения.

Анализ полученных данных позволил сделать следующие выводы: эффективность получения качественного жира при обработке копченых голов кильки практически не зави-

сит от вида фермента. Внутренние органы судака наилучшим образом выделяют жир при ферментации алкалозой. Головы скумбрии ферментируются с одинаковой эффективностью алкалозой и протосубтилином. Во всех случаях количество жира, выделенного из данных отходов, достаточно высокое (50–70 % от его содержания в сырье), и по этому показателю ферментативный способ выделения жира можно считать рациональным. Однако все полученные рыбные жиры имеют достаточно высокие значения кислотных и перекисных чисел, особенно полученные из скумбрии. Это объясняется ее океаническим происхождением, хранением в мороженом виде на судах до обработки, в течение которого жир подвергается окислению. Наибольший выход жира из внутренностей судака и повышенные значения кислотного и перекисного чисел в нем объясняется отсутствием костей и коллагеновых тканей, затрудняющих экстракцию, а также наличием собственных пищеварительных ферментов, активирующих процессы деградации тканей. Минимальные негативные изменения в шпротном жире обусловлены высокой свежестью кильки, выловленной в Балтийском море и направленной в обработку без задержки и холодильного хранения, а также наличием копильных компо-

ментов, обладающих антиоксидантным действием.

Полученные данные свидетельствуют о рациональности применения ферментативного способа выделения жира из рыбных отходов с точки зрения полноты его экстрагирования, но свидетельствуют об интенсивных гидролитических и окислительных процессах в получаемых жирах, следствием чего является накопление перекисей и гидроперекисей. Высокое содержание продуктов гидролиза и окисления жира может негативно влиять на его жирнокислотный состав и возможность использования в качестве субстрата для микробного синтеза продуктов биотехнологии.

Оценку биопотенциала жиров, ферментативно выделенных из различных рыбных отходов при обработке алкалазой, изучали по их жирнокислотному составу (табл. 3).

Из данных табл. 3 следует, что исследованные жиры рыб, независимо от вида сырья, по содержанию ключевых жирных кислот близки между собой и содержат повышенное количество длинноцепочечных жирных кислот (22,37–43,83 % от суммы всех ЖК), включающих 19 и более атомов углерода, и полиеновых ЖК (26,05–35,59 %) с повышенным количеством ЖК семейства  $\omega 3$  (18,34–30,10 %). При этом жир скумбрии, отличающийся самыми высокими показателями кислотного и перекисного чисел (см. табл. 3), содержит максимальное количество длинноцепочечных ЖК (43,83 %) и достаточно большое количество ЖК семейства  $\omega 3$  (26,73 %) при минимальном количестве насыщенных ЖК (27,35 %). В то же время жир из внутренностей судака, отличающийся относительно благоприятными показателями качества (см. табл. 3), обладает минимальным количеством длинноцепочечных ЖК (22,37 %), ПНЖК (26,05 %) и ЖК семейства  $\omega 3$  (18,34 %). Максимальное количество ЖК семейства  $\omega 3$  установлено в жире из голов копченой кильки (30,1 %).

Наибольшее количество насыщенных жирных кислот у всех жиров приходится на пальмитиновую ЖК 16:0 (14,01–19,48 %), из моноеновых ЖК семейства  $\omega 9$  преобладает олеиновая 18:1 (14,85–21,98 %), а из ЖК семейства  $\omega 3$  преобладает докозагексаеновая 22:6 в килечном и скумбриевом жире (соответственно 14,92 и 16,11 %) и эйкозапентаеновая ЖК 20:5 (10,99 и 8,97 % соответственно в килечном и скумбриевом жире).

Таким образом, можно заключить, что, независимо от вида жира и степени его гидролитических и окислительных изменений, составы липидов, выделенных ферментативно из рыбных отходов, по содержанию длинноцепочечных, моно-, ди- и полиненасыщенных ЖК достаточно близки по качеству и количеству. Такие жиры вполне могут быть использованы для микробного синтеза продуктов биотехнологии, что подтверждается опубликованными ранее результатами по получению полигидроксиалканоатов с применением рыбных жиров [11–15]. Например, при использовании жира кильки, полученного из отходов производства консервов и обладающих похожим жирнокислотным составом, в качестве углеродного субстрата для синтеза белков одноклеточных и разрушаемых биопластиков ПГА в трех культурных штаммах (*Cupriavidus necator B-5786*, *C. necator B-8562*, *C. necator B-10646*) при различных режимах выращивания все штаммы синтезировали белковую биомассу или резервные ПГА. На полной среде все штаммы производили белковые массы с различным содержанием белка. При лимитированном росте по азоту были получены выходы ПГА в штаммах на уровне 60–70 %, а биополимеры были представлены сополимерами поли(3-гидроксibuтират-со-3-гидроксивалерат-со-3-гидроксигексаноат) [15, 16].

Таким образом, ферментативно извлекаемые жиры из жиросодержащих отходов рыбпереработки можно отнести к перспективному, доступному и возобновляемому источнику углерода, пригодному для получения субстрата для биотехнологического синтеза белков одноклеточных и биоразрушаемых пластиков.

#### **Выводы**

1. Изучен ферментативный способ выделения жира из наиболее массовых жиросодержащих рыбных отходов Калининградской области (голов копченой кильки и скумбрии, внутренностей судака) с применением протеолитических ферментов (алкалаза, протосубтилин, протозим). Установлены особенности процесса ферментализации в зависимости от вида сырья и фермента, технологических параметров процесса. Ферментативное воздействие на рыбные отходы позволяет выделять 44–63,4 % жира от его содержания в сырье, что сравнимо по эффективности с традиционным термическим способом получения рыбного жира.

Таблица 3

Жирнокислотный состав жиров, извлеченных из рыбных отходов ферментализом  
с применением алкалазы, г/100 г жирных кислот

Жирная кислота	Головы копченой кильки	Внутренности судака	Головы скумбрии
10:0	–	0,03	–
12:0	–	0,09	–
13:0	–	0,05	–
13:0 разветвленная ЖК	–	–	0,16
i-13:0	–	0,11	–
14:0	3,85	3,24	5,73
14:0 разветвленная ЖК	0,56	–	–
i-14:0	–	0,56	0,19
ai-14:0	0,18	0,21	0,07
14:1	–	0,21	–
15:0	0,58	0,69	0,48
i-15:0	0,19	0,26	0,07
16:0	19,48	14,72	14,01
i-16:0	–	0,54	0,23
ai-16:0	0,34	0,56	0,35
16:1 $\omega$ 7	4,94	15,69	4,43
16:1	0,49	1,38	0,31
16:1	0,30	0,56	0,26
16:2 $\omega$ 6	–	0,45	0,25
16:3 $\omega$ 3	–	0,28	0,16
16:4	–	–	0,42
17:0	0,46	1,00	0,47
i-17:0	–	–	0,10
17:1	0,51	0,65	0,34
18:0	5,62	6,06	4,14
18:1 $\omega$ 9	21,98	21,33	14,85
18:1 $\omega$ 7	3,21	4,86	2,93
18:3 $\omega$ 3	3,94	2,89	1,31
18:4	3,09	1,08	4,01
19:0	–	0,13	–
20:0	–	0,23	0,26
20:1 $\omega$ 9	0,41	0,49	5,53
20:2 $\omega$ 6	0,78	0,30	0,18
20:3 $\omega$ 3 11,14,17	0,26	0,24	0,18
20:4 $\omega$ 6	1,26	4,82	1,39
20:5 $\omega$ 3	10,99	6,44	8,97
22:0	0,25	0,06	0,19

Жирная кислота	Головы копченой кильки	Внутренности судака	Головы скумбрии
22:1 ω9	0,18	–	9,78
22:4 ω6	–	0,67	–
22:5	0,35	0,56	0,40
22:6 ω3	14,92	8,32	16,11
24:1 ω9	0,88	0,24	0,84
Σ насыщенные ЖК	31,51	28,54	27,35
Σ ненасыщенные ЖК	68,49	71,46	72,65
Σ насыщенные ЖК/ Σ ненасыщенные ЖК	0,46	0,40	0,38
Σ моноеновые ЖК	32,90	45,41	39,27
Σ полиеновые ЖК	35,59	26,05	33,38
Σ длинноцепочечные ЖК (свыше 19 атомов углерода)	30,28	22,37	43,83

Примечание: i – изо-кислота; ai – антиизо-кислота; «–» – не обнаружено.

2. По показателям выхода жира с учетом всех факторов предпочтительнее при ферментативном способе извлечения жира из всех исследованных рыбных отходов использовать фермент алкалаза, а при обработке голов копченой кильки – также фермент протосубтилин. При этом во всех жирах идут гидролитические и окислительные процессы, которые в наименьшей степени выражены в шпротных образцах (КЧ 6,2–6,7 мг КОН/1 г; ПЧ 9,0–18,7 ммоль акт. кисл./кг), в наибольшей степени – в жирах скумбрии (КЧ 14,5–18,8 мг КОН/1 г; ПЧ 43,7–164,7 ммоль акт. кисл./кг).

3. В качестве рациональных режимов ферментализации всех рыбных жиросодержащих отходов можно рекомендовать температуру 50–60 °С; продолжительность 40–60 минут; дозировку фермента 0,05–0,5 % к массе сырья,

в зависимости от его вида. Данные параметры процесса позволяют извлекать жир в количестве 45–68 % (головы скумбрии), 72–83 % (головы копченой кильки) и 71–88 % (внутренности судака) от его содержания в сырье при минимально возможных изменениях качества.

4. Жирнокислотный состав экстрагированных с применением алкалазы рыбных жиров показал во всех жирах преобладание длинноцепочечных жирных кислот ((22,37–43,83 % от суммы всех ЖК) и высокое содержание полиеновых ЖК (26,05–35,59 %). Полученные данные позволяют считать ферментативно извлеченные рыбные жиры перспективным источником углерода для получения субстрата для микробного синтеза белка одноклеточных и биоразрушаемых пластиков полигидроксиканоатов.

### Список литературы

1. Боева Н.П., Бредихина О.В., Петрова М.С., Баскакова Ю.А. Технология жиров из водных биологических ресурсов: монография. М.: Изд-во ВНИРО, 2016. 107 с.
2. Мезенова О.Я. Потенциал вторичного рыбного сырья // Известия высших учебных заведений. Пищевая технология, 2018. № 1. С. 11–18. DOI: 10.17586/1606-4313-2018-17-1-5-10.
3. Pinela José, Fuente Beatrizdela, Rodrigues Matilde et al. Fish By-Products into Bioactive Fish Oil: The Suitability of Microwave-Assisted Extraction // Biomolecules. 2022. 13(1). DOI: 10.3390/biom13010001.
4. Разработка технологии получения жира из жиросодержащих отходов переработки промысловых рыб Волжско-Каспийского бассейна / М.Д. Мукатова, Н.А. Киричко, М.С. Моисеенко, С.А. Соколов // Известия ТИПРО, 2018. Т. 193. С. 211–222. DOI: 10.26428/1606-9919-2018-193-211-222.

5. Потенциал и перспективы использования жира из копченых рыбных отходов / О.Я. Мезенова, С.В. Агафонова, Н.Ю. Романенко и др. // Известия КГТУ. 2023. № 70. С. 103–114. DOI: 10.46845/1997-3071-2023-70-103-114.
6. Исследование и рациональное применение пептидных и липидных композиций, получаемых при гидролизной переработке коллагенсодержащих тканей / О.Я. Мезенова, Д. Тишлер, С.В. Агафонова и др. // Вестник Международной академии холода, 2021. № 1. С. 46–58. DOI: 10.17586/1606-4313-2021-20-1-46-58
7. Обоснование рациональных режимов термического выделения липидов из жиросодержащих рыбных отходов / О.Я. Мезенова, С.В. Агафонов, Н.Ю. Романенко и др. // Рыбное хозяйство. 2023. № 4. С. 103–110. DOI: 10.37663/0131-6184-2023-4-99-106.
8. Оценка безопасности и биологической ценности очищенного жира из вторичного шпротного сырья / С.В. Агафонова, О.Я. Мезенова, Л.В. Дамбарович // Известия вузов. Пищевая технология. 2023. № 4 (393). С. 123–128. DOI: 10.26297/0579-3009.2023.4.21.
9. Nahidur Rahman, Shaharior Hashem, Shireen Akther, Jakia Sultana Jothi Impact of various extraction methods on fatty acid profile, physicochemical properties, and nutritional quality index of Pangus fish oil // Food Science & Nutrition. 2023. 11(8). DOI: 10.1002/fsn3.3431
10. Дамбарович Л.В., Агафонова С.В. Ферментативная экстракция жира из вторичного сырья атлантической скумбрии и его использование в функциональном питании // Вестник МАХ, 2022. №2. С. 48–55. DOI: 10.17586/1606-4313-2022-21-2-48-55.
11. Authors D.V. Thuoc V.T.M. Bioconversion of Crude Fish Oil Into Poly-3-hydroxybutyrate by *Ralstonia* sp. M91 // Anh Applied Biochemistry and Microbiology. 2021. Vol. 57, No. 2. P. 219–225. DOI: 10.1016/j.btre.2022.e00700.
12. Correa-Galeote David, Argiz Lucia, Val del Rio Angeles et al. Dynamics of PHA-Accumulating Bacterial Communities Fed with Lipid-Rich Liquid Effluents from Fish-Canning Industries // Polymers. 2022. V. 14. P. 1396. <https://doi.org/10.3390/polym14071396>.
13. Doan Van Thuoc, Dam Ngoc My, Tran Thi Loan, Kumar Sudesh. Utilization of waste fish oil and glycerol as carbon sources for polyhydroxyalkanoate production by *Salinivibrio* sp. M318 // International Journal of Biological Macromolecules. 2019. V. 141. P. 885–892. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2019.09.063.
14. Gonzalez-Cabaleiro Rebeca, Correa-Galeote David, Val del Rio Angeles, Mosquera-Corralla Anuska. Open-culture biotechnological process for triacylglycerides and polyhydroxyalkanoates recovery from industrial waste fish oil under saline conditions Lucia Argiza // Separation and Purification Technology 270 (2021) 118805. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2021.118805>
15. Отходы рыбопереработки – перспективный субстрат для синтеза целевых продуктов биотехнологии / Н.О. Жила, В.В. Волков, О.Я. Мезенова и др. // Журнал СФУ. Биология. 2023. Т. 16(3). С. 386–397. URL: <https://elib.sfu-kras.ru/handle/2311/151781>.
16. Properties of degradable polyhydroxyalkanoates synthesized from new waster fish oils (WFO) / N.O. Zhila, E.G. Kiselev, V.V. Volkov et al. // Int J Mol Sci. 2023. Oct 5; 24(19):14919. DOI: 10.3390/ijms241914919.
17. Исследование процесса выделения жира из отходов рыбопереработки в качестве сырья для биотехнологического синтеза полигидроксиалканоатов / О.Я. Мезенова, С.В. Агафонова, Н.Ю. Романенко и др. // Вестник МАХ. 2024. № 1. С. 51–59. DOI: 10.17586/1606-4313-2024-23-1-50-59.
18. Volova T., Sapozhnikova K., Zhila N. *Cupriavidus necator* B-10646 growth and polyhydroxyalkanoates production on different plant oils // International Journal of Biological Macromolecules. 2020. No. 164. P. 121–130. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2020.07.095.
19. Ella Aitta, Alexis Marsol-Vall, Annelie Damerou and Baoru Yang Enzyme-Assisted Extraction of Fish Oil from Whole Fish and by-Products of Baltic Herring (*Clupea harengus* membras) // Foods. 2021, 10(8), 1811. <https://doi.org/10.3390/foods10081811>.
20. Tran Thi Loana, Dao Thi Quynh Tranga, Pham Quang Huyc et al. A fermentation process for the production of poly(3-hydroxybutyrate) using waste cooking oil or waste fish oil as inexpensive carbon substrate // Biotechnology Reports. 2022. V. 33. DOI: 10.1016/j.btre.2022.e00700.

### References

1. Boeva N.P., Bredikhina O.V., Petrova M.S., Baskakova Yu.A. *Tekhnologiya zhirov iz vodnykh biologicheskikh resursov* [Technology of fats from aquatic biological resources]. Moscow, 2016. 107 p.
2. Mezenova O.Ya. Potential of secondary fish raw materials. *News of higher educational institutions. Food technology*, 2018, no. 1, pp. 11–18. DOI: 10.17586/1606-4313-2018-17-1-5-10. (In Russ.)
3. Pinela José, Fuente Beatrizdela, Rodrigues Matilde et al. Fish By-Products into Bioactive Fish Oil: The Suitability of Microwave-Assisted Extraction. *Biomolecules*, 13(1) 2022. DOI: 10.3390/biom13010001.
4. Mukatova M.D., Kirichko N.A., Moiseenko M.S., Sokolov S.A. Development of technology for obtaining fat from fat-containing waste from the processing of commercial fish in the Volga-Caspian basin. *Izvestia TINRO*, 2018, no. 193, pp. 211–222. DOI: 10.26428/1606-9919-2018-193-211-222 (In Russ.)
5. Mezenova O.Ya., Agafonova S.V., Romanenko N.Yu., Kalinina N.S., Volkov V.V., Dambarovich L.V. Potential and prospects for the use of fat from smoked fish waste. *News of KSTU*, 2023, no. 70, pp. 103–114. DOI: 10.46845/1997-3071-2023-70-103-114 (In Russ.)
6. Mezenova O.Ya., Tishler D., Agafonova S.V., Mezenova N.Yu., Volkov V.V., Baranenko D.A., Grimm T., Riedel S. Research and rational use of peptide and lipid compositions obtained by hydrolytic processing of collagen-containing tissues. *Bulletin of the International Academy of Refrigeration*, 2021, no. 1, pp. 46–58. DOI: 10.17586/1606-4313-2021-20-1-46-58 (In Russ.)
7. Mezenova O.Ya., Agafonov S.V., Romanenko N.Yu., Kalinina N.S., Volkov V.V. Justification of rational regimes for thermal separation of lipids from fat-containing fish waste. *Fisheries*, 2023, no. 4, pp. 103–110. DOI: 10.37663/0131-6184-2023-4-99-106 (In Russ.)
8. Agafonova S.V., Mezenova O.Ya., Dambarovich L.V. Assessing the safety and biological value of purified fat from recycled sprat raw materials. *News of universities. Food Technology*, 2023, no. 4 (393), pp. 123–128. DOI: 10.26297/0579-3009.2023.4.21 (In Russ.)
9. Nahidur Rahman, Shaharior Hashem, Shireen Akther, Jakia Sultana Jothi Impact of various extraction methods on fatty acid profile, physicochemical properties, and nutritional quality index of Pangus fish oil. *Food Science & Nutrition*, 2023, no. 11(8). DOI: 10.1002/fsn3.3431.
10. Dambarovich L.V., Agafonova S.V. Enzymatic extraction of fat from secondary raw materials of Atlantic mackerel and its use in functional nutrition. *Vestnik MAX*, 2022, no. 2, pp. 48–55. DOI: 10.17586/1606-4313-2022-21-2-48-55 (In Russ.)
11. Authors D.V., Thuoc V.T.M. Bioconversion of Crude Fish Oil Into Poly-3-hydroxybutyrate by *Ralstonia* sp. M91. *Anh Applied Biochemistry and Microbiology*, 2021, vol. 57, no. 2, pp. 219–225. DOI: 10.1016/j.btre.2022.e00700.
12. Correa-Galeote David, Argiz Lucia, Val del Rio Angeles, Mosquera-Corral Anuska, Juarez-Jimenez Belen, Gonzalez-Lopez Jesus and Rodelas Belen. Dynamics of PHA-Accumulating Bacterial Communities Fed with Lipid-Rich Liquid Effluents from Fish-Canning Industries. *Polymers*, 2022, no. 14, 1396. <https://doi.org/10.3390/polym14071396>.
13. Doan Van Thuoc a, Dam Ngoc My a, Tran Thi Loan a, Kumar Sudesh. Utilization of waste fish oil and glycerol as carbon sources for polyhydroxyalkanoate production by *Salinivibrio* sp. M318. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2019, vol. 141, pp. 885–892. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2019.09.063.
14. Gonzalez-Cabaleiro Rebeca, Correa-Galeote David, Val del Rio Angeles, Mosquera-Corral Anuska. Open-culture biotechnological process for triacylglycerides and polyhydroxyalkanoates recovery from industrial waste fish oil under saline conditions Lucia Argiza. *Separation and Purification Technology*, 2021, no. 270, 118805. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2021.118805>.
15. Zhila N.O., Volkov V.V., Mezenova O.Ya., Kiselev E.G., Volova T.G. Fish processing waste is a promising substrate for the synthesis of target biotechnology products. *Journal of SFU. Biology*, 2023, no. 16(3), pp. 386–397. (In Russ.) URL: <https://elib.sfu-kras.ru/handle/2311/151781>
16. Properties of degradable polyhydroxyalkanoates synthesized from new waster fish oils (WFO) / N. O. Zhila, E.G. Kiselev, V.V. Volkov, O.Ya. Mezenova, K.Yu. Sapozhnikova, E.I. Shishatskaya, and T.G. Volova // *Int J Mol Sci*, 2023, Oct 5; no.24(19):14919. doi: 10.3390/ijms241914919.

17. Mezenova O.Ya., Agafonova S.V., Romanenko N.Yu., Kalinina N.S., Volkov V.V. Study of the process of fat extraction from fish processing waste as a raw material for the biotechnological synthesis of polyhydroxyalkanoates. *Bulletin of the MAF*, 2024, no. 1, pp. 51–59. (In Russ.) DOI: 10.17586/1606-4313-2024-23-1-50-59.

18. Volova T., Sapozhnikova K., Zhila N. Cupriavidus necator B-10646 growth and polyhydroxyalkanoates production on different plant oils. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2020, no. 64, pp. 121–130. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2020.07.095

19. Ella Aitta, Alexis Marsol-Vall, Annelie Damerou and Baoru Yang Enzyme-Assisted Extraction of Fish Oil from Whole Fish and by-Products of Baltic Herring (*Clupea harengus membras*). *Foods*, 2021, no. 10(8), 1811. <https://doi.org/10.3390/foods10081811>

20. Tran Thi Loana,b, Dao Thi Quynh Tranga, Pham Quang Huyc, Pham Xuan Ninhd, Doan Van Thuoca. A fermentation process for the production of poly(3-hydroxybutyrate) using waste cooking oil or waste fish oil as inexpensive carbon substrate. *Biotechnology Reports*, 2022, vol. 33. DOI: 10.1016/j.btre.2022.e00700.

### **Информация об авторах**

**Мезенова Ольга Яковлевна**, д-р техн. наук, профессор, зав. кафедрой пищевой биотехнологии, Калининградский государственный технический университет, Калининград, Россия; mezenova@klgtu.ru

**Агафонова Светлана Викторовна**, канд. техн. наук, доцент кафедры пищевой биотехнологии, Калининградский государственный технический университет, Калининград, Россия; svetlana.agafonova@klgtu.ru

**Романенко Наталья Юрьевна**, канд. техн. наук, доцент кафедры пищевой биотехнологии, Калининградский государственный технический университет, Калининград, Россия; nataliya.mezenova@klgtu.ru

**Жила Наталья Олеговна**, канд. биол. наук, старший научный сотрудник, Институт биофизики СО РАН, Красноярск, Россия; nzhila@mail.ru

**Калинина Наталья Сергеевна**, заведующая лабораториями кафедры пищевой биотехнологии, Калининградский государственный технический университет, Калининград, Россия; natalya.kalinina@klgtu.ru

**Волков Владимир Владимирович**, директор Центра белка кафедры пищевой биотехнологии, Калининградский государственный технический университет, Калининград, Россия; vladimir.volkov@klgtu.ru

**Дамбарович Леонид Васильевич**, аспирант кафедры пищевой биотехнологии, Калининградский государственный технический университет, Калининград, Россия; leodambarovich@yandex.ru

### **Information about the authors**

**Olga Ya. Mezenova**, DSc., professor, Chair of the Department of food biotechnology, Kaliningrad State Technical University, Kaliningrad, Russia; mezenova@klgtu.ru

**Svetlana V. Agafonova**, PhD, Associate Professor of the Department of Food Biotechnology, Kaliningrad State Technical University, Kaliningrad, Russia; svetlana.agafonova@klgtu.ru

**Natalya Yu. Romanenko**, PhD, Associate Professor of the Department of Food Biotechnology, Kaliningrad State Technical University, Kaliningrad, Russia; nataliya.mezenova@klgtu.ru

**Natalya O. Zhila**, Ph.D. in Biology, Senior Researcher, Institute of Biophysics of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Krasnoyarsk, Russia; nzhila@mail.ru

**Natalya S. Kalinina**, Head of the Laboratory of the Department of Food Biotechnology, Kaliningrad State Technical University, Kaliningrad, Russia; natalya.kalinina@klgtu.ru

**Vladimir V. Volkov**, Director of the Protein Center of the Department of Food Biotechnology, Kaliningrad State Technical University, Kaliningrad, Russia; vladimir.volkov@klgtu.ru

**Leonid V. Dambarovich**, postgraduate student of the Department of Food Biotechnology, Kaliningrad State Technical University, Kaliningrad, Russia; leodambarovich@yandex.ru

**Статья поступила в редакцию 15.11.2024**

**The article was submitted 15.11.2024**