

УДК 66-96:636.036.3

ПОДБОР ОПТИМАЛЬНЫХ РЕЖИМОВ ФЕРМЕНТАТИВНОГО ГИДРОЛИЗА ПЕРОПУХОВОГО СЫРЬЯ НА ПИЛОТНОЙ УСТАНОВКЕ

Дышлюк Л.С., Сухих С.А., Волков А.П., Миленцева И.С.,
Долганюк В.Ф., Носкова С.Ю.

ФГБОУ ВО «Кемеровский технологический институт пищевой промышленности», Кемерово,
e-mail: elen.ulrich@mail.ru

Изучили технологию гидролиза перопухового сырья. Установили в лабораторных условиях оптимизированные параметры процесса гидролиза перопухового сырья. Составили оптимальные мультиферментные композиции. Провели пастеризацию белкового сырья. Провели предварительную очистку биомассы от остатков сырья. При отработке режимов ферментативного гидролиза перопухового сырья на пилотной установке оценили молекулярно-массовое распределение белково-пептидной фракции экспериментальных образцов ферментативных гидролизатов перопухового сырья и сравнили результаты с данными, полученными на лабораторном уровне. Установили, что преобладающими в составе ферментативных гидролизатов перопухового сырья, полученных на пилотном уровне, являются компоненты с молекулярной массой 3–10 кДа. Их относительная доля составляет 57,6–58,5%. Содержание низкомолекулярных компонентов (< 3 кДа) варьирует в пределах 34,3–36,3%, высокомолекулярных белковых компонентов (> 10 кДа) – 6,1–7,3%. Следует отметить высокую воспроизводимость молекулярно-массового распределения ферментативных гидролизатов перопухового сырья, полученных на пилотном уровне.

Ключевые слова: перопуховое сырье, кератинсодержащее сырье, технологии переработки перопухового сырья, ферментативный гидролиз, пилотная установка

THE SELECTION OF OPTIMUM CONDITIONS ENZYMATIC HYDROLYSIS FEATHER FLUFF STOCK IN A PILOT PLANT

Dyshlyuk L.S., Sukhikh S.A., Volkov A.P., Milenteva I.S., Dolganyuk V.F., Noskova S.Yu.

Kemerovo Technological Institute of Food Industry, Kemerovo, e-mail: elen.ulrich@mail.ru

Studied Feather and downy raw hydrolysis technology. Installed in the laboratory parameters are optimized raw material Feather and downy hydrolysis process. Made Multienzyme optimal composition. Conducted pasteurization of raw protein. We conducted a preliminary cleanup of the biomass raw material residues. In developing modes of enzymatic hydrolysis of raw material Feather and downy on the pilot plant was rated by the molecular weight distribution of protein and peptide fractions of experimental samples of enzymatic hydrolysates Feather and downy raw materials and compared the results with those obtained at the laboratory level. We found that prevailing in the composition of enzymatic hydrolysates Feather and downy raw materials obtained at the pilot level, are the components of a molecular weight of 3–10 kDa. Their relative share is 57,6–58,5%. The content of low molecular weight components (> 3 kDa) varies between 34,3–36,3%, high molecular weight protein component (> 10 kDa) – 6,1–7,3%. Note the high reproducibility of the molecular weight distribution of raw Feather and downy enzymatic hydrolysates obtained at pilot level.

Keywords: feather and downy raw keratin-containing raw materials, processing technology of raw material Feather and downy, enzymatic hydrolysis, pilot plant

Особую актуальность проблема утилизации отходов имеет для птицеперерабатывающей промышленности. В Российской Федерации во всех категориях хозяйств насчитывается около 450 млн голов птицы. Производство мяса птицы в России постоянно растет из-за увеличения спроса на мясо птицы, крупных инвестиций в создание новых птицефабрик и сокращения импортных поставок [4]. Некоторые регионы, которые ранее не были лидерами в производстве мяса птицы, теперь становятся крупнейшими производителями (например, Белгородская область). Доля мяса птицы в общем объеме производства мяса достигла 42% против 18% – в 1990 г., что соответствует мировым тенденциям. Лидером производства мяса из разных видов птиц является куриное мясо – более 97% производства.

С ростом выпуска мяса птицы значительно возрастают объемы отходов потребления птицы. Особые трудности возникают при переработке перьевых отходов, составляющих 7,5% от живого веса обрабатываемого сырья. Такое сырье отличается высоким содержанием белка кератина, что обуславливает ценность данного продукта. Однако применяемые технологии для переработки кератинсодержащего сырья на кормовые цели не всегда позволяют получить продукцию высокого качества [6, 10, 16].

В зависимости от типа животного сырья, полноценный белок может составлять 15–20% по весу от потенциально извлекаемого белка отходов. Однако на настоящем уровне степень извлечения белка из животного сырья не превышает в среднем 50%. Кроме того, существующие в настоящее

время методы извлечения белка животного происхождения из отходов мясной и птицеперерабатывающей промышленности, а именно жесткая температурная или кислотная обработка, не позволяют провести извлечение наиболее лабильных аминокислот – метионина и триптофана. Следовательно, используемые в настоящее время технологии обуславливают получение биологически неполноценных продуктов низкого или неудовлетворительного качества [8, 12, 17].

Работа выполняется в соответствии с комплексным проектом по созданию высокотехнологичного производства с участием российского высшего учебного заведения по теме: «Организация высокотехнологичного производства высокобелковых кормовых добавок и биоудобрений на основе комплексной технологии переработки перопухового сырья и других малоценных отходов птицеперерабатывающей промышленности» № 02.G25.31.0151 от 01.12.2015.

В рамках предыдущего этапа работ по проекту оптимизирована технология гидролиза перопухового сырья мультиферментной композицией (Протеаза #2630/2256 и Протолад Б) на лабораторном уровне с использованием методологии полнофакторного эксперимента с тремя варьируемыми параметрами (доза ферментного препарата, длительность ферментации и режим гидро-модуля).

Целью работы является отработка режимов ферментативного гидролиза перопухового сырья на пилотной установке.

В рамках данной работы проводится отработка режимов ферментативного гидролиза перопухового сырья на пилотной установке.

Материалы и методы исследования

Объектами исследований в рамках договора были перопуховое сырье птиц пород «РОСС-708», «Хайсекс Уайт» и «Кросс Смена» птицефабрики ООО «Кузбасский бройлер» (Кемеровская область, Россия).

Пилотная линия для проведения ферментативного гидролиза перопухового сырья производительностью не менее 300 кг/час состоит из измерительного стенда № 2 для исследования и оптимизации режимов переработки данного сырья с целью получения высокобелковой кормовой добавки с улучшенными показателями биологической ценности и переваримости.

Данная линия является уникальной и не имеет аналогов в России и в мире, как по своей компоновке, так и по функциональному назначению отдельных элементов. Основными компонентами линии являются современные мирового уровня приборы и аппараты, позволяющие смоделировать и исследовать процесс обезвоживания и подготовки сырья перед подачей в универсальный ферментационный реактор.

Спецификация оборудования для ферментативного гидролиза перопухового сырья представлена в табл. 1.

Таблица 1
Спецификация оборудования для ферментативного гидролиза перопухового сырья

Позиция	Наименование и техническая характеристика	Кол-во
1	Система предварительной очистки перопухового сырья от посторонних включений	1
2	Пресс для отжима пера	1
3	Транспортер перопухового сырья	1
4	Блок предварительной стерилизации перопухового сырья	1
5	Экспериментальный ферментационный реактор	1

Основным элементом линии является универсальный ферментационный реактор, который позволяет в потоке производить измельчение перопухового сырья, полную стерилизацию массы и гидролиз белка (кератина), содержащегося в сырье. С помощью линии возможна отработка различных режимов переработки перопухового сырья, позволяющих получить в качестве конечного продукта сбалансированную по аминокислотному составу высокобелковую кормовую добавку с содержанием протеина не менее 95% и долей физиологически доступного белка в получаемых продуктах – не менее 95%.

Спроектированные в оборудовании линии ручной и автоматический режимы управления позволяют операторам варьировать скорость прохождения потока сырья через каждый отдельный элемент линии, время выдержки перерабатываемого сырья в рабочей части оборудования. Получаемые на линии результаты позволят оценить необходимость и внести соответствующие коррективы непосредственно в разрабатываемый технологический процесс ферментативного гидролиза перопухового сырья. Это может касаться параметров влажности сырья, температуры и продолжительности процесса гидролиза белка.

Созданная линия имеет производительность не менее 300 кг переработки влажного перопухового сырья в час и позволяет в формате экспериментального производства смоделировать и апробировать аппаратную часть технологии ферментативного гидролиза перопухового сырья.

Одновременно с отработкой технологических режимов может осуществляться и оценка экономической эффективности нового способа по таким основным параметрам, как выход продукта, содержание белка в продукте, энерго- и теплотраты.

Отработка оптимальных технологических режимов переработки перопухового сырья на базе линии позволяет снять риски масштабирования технологии производства высокобелковой кормовой добавки в объеме промышленного производства.

Технологический процесс проведения ферментативного гидролиза перопухового сырья включает следующие операции:

1. Составление мультиферментной композиции, осуществляющей ферментативный гидролиз перопухового сырья (Протеаза #2630/2256 и Протолад Б).

2. Ферментативный гидролиз преобработанного перопухового сырья мультиферментной композицией. В ферментационный реактор объемом 3,0 м³ добавляли воду в соответствии с заданным режимом гидромодуля и вносили предварительно измельчённое сырьё. После загрузки температуру смеси сырья и воды доводили до 55 °С. В нагретую до 55 °С смесь вносили раствор мультиферментной композиции (Протеаза #2630/2256 и Протолад Б). Ферментативный гидролиз вели при температуре 55 °С и постоянном перемешивании со скоростью 24 об/мин в течение 2 ч.

3. Пастеризация биомассы. После окончания ферментативного гидролиза температуру массы поднимали до 90–95 °С, выдерживали при этой температуре в течение 30 мин и направляли для дальнейшей обработки.

4. Предварительная очистка биомассы от остатков сырья. Пастеризованная масса направлялась в декантер для очистки от «плотных» включений, затем «жидкая фаза» направлялась в приёмную ёмкость и затем на сепаратор для обезжиривания и дополнительной очистки.

5. Получение белкового бульона. Из приемной емкости белковый полуфабрикат подавали на сепаратор для обезжиривания, температура белкового полуфабриката, подаваемого на сепаратор, была не менее 80 °С.

массовое распределение белково-пептидной фракции экспериментальных образцов ферментативных гидролизатов перопухового сырья № 1–3 (табл. 2) и сравнивали результаты с данными, полученными на лабораторном уровне.

Преобладающими в составе ферментативных гидролизатов перопухового сырья, полученных на пилотном уровне, являются компоненты с молекулярной массой 3–10 кДа. Их относительная доля составляет 57,6–58,5%. Содержание низкомолекулярных компонентов (М.в. < 3 кДа) варьирует в пределах 34,3–36,3%, высокомолекулярных белковых компонентов (М.в. > 10 кДа) – 6,1–7,3%. Следует отметить высокую воспроизводимость молекулярно-массового распределения ферментативных гидролизатов перопухового сырья, полученных на пилотном уровне.

По сравнению с ферментативными гидролизатами, полученными при сходных условиях гидролиза на лабораторном уровне, экспериментальные образцы с пилотного уровня характеризуются несколько меньшей глубиной гидролиза. Так, в лабораторных образцах, полученных в сходных

Таблица 2

Молекулярно-массовое распределение белково-пептидной фракции экспериментальных образцов ферментативных гидролизатов перопухового сырья, полученных на пилотном уровне

Образец	Относительное содержание фракций с соответствующими диапазонами молекулярных масс, %		
	> 10 кДа	3–10 кДа	< 3 кДа
1	6,12	57,62	36,26
2	7,29	58,47	34,26
3	7,15	58,09	34,76

Предварительные эксперименты по проведению ферментативного гидролиза перопухового сырья на пилотной линии были проведены при условиях гидролиза предварительно оптимизированных в ходе экспериментов на лабораторном уровне.

- Гидромодуль 8;
- продолжительность ферментации, ч. 2;
- доза ферментного препарата Протеаза #6230/2256, Ед/г сырья 15;
- доза ферментного препарата Протолад Б, Ед/г сырья 30.

Ферментативный гидролиз перопухового сырья проводили при постоянной температуре (55 ± 2 °С), концентрации сульфата натрия в реакционной среде 0,5% и начальном значении рН реакционной смеси 7,2.

Результаты исследования и их обсуждение

При отработке режимов ферментативного гидролиза перопухового сырья на пилотной установке оценивали молекулярно-

условиях гидролиза содержание высокомолекулярных компонентов не превышает 4,0%, а преобладающий вклад в молекулярно-массовое распределение вносят не среднемoleкулярные (М.в. 3–10 кДа), а низкомолекулярные компоненты (М.в. < 3 кДа). Средняя молекулярная масса лабораторных образцов, полученных в близких условиях ферментативного гидролиза, варьирует в пределах 4,08–4,91 кДа. Для ферментативных гидролизатов перопухового сырья, полученных на пилотном уровне, средняя молекулярная масса варьирует в диапазоне 4,70–4,79 кДа.

Заключение

Таким образом, с учетом технико-экономических показателей процесса, а также результатов экспериментов по гидролизу перопухового сырья на пилотном уровне

были установлены оптимальные параметры процесса:

- Гидромодуль 8;
- продолжительность ферментации, ч. 2;
- доза ферментного препарата Протеаза #6230/2256, Ед/г сырья 15;
- доза ферментного препарата Протолад Б, Ед/г сырья 30.

Список литературы

1. Максимов В.Н. Применение методов планирования многофакторного эксперимента при оптимизации состава питательной среды / В.Н. Максимов, Е.И. Никитина // Практикум по микробиологии (под ред. А.И. Нетрусова). – М.: Academia – 2005. – С. 264–283.
2. Оптимизация процесса ферментативного гидролиза для получения функционального мясного протеина / И.В. Николаев, Е.В. Степанова, Н.Л. Еремеев, Д.Ю. Исмаилова, Б.Ц. Зайчик, А.О. Ружицкий, В.П. Хотченков, Е.В. Костылева, А.П. Сеницын, В.Г. Волик, О.В. Королева // Биотехнология – 2008 – Т. 5 – С. 59–67.
3. Подсобляева Л.А. Исследование процесса щелочно-гидролиза кератинсодержащего сырья / Л.А. Подсобляева, М.Л. Файвишевский, Г. Горюшко // Мясная индустрия СССР – 1981. – № 11. – С. 32–35.
4. Сницарь А.И. Получение кормовой муки из коллагенсодержащих видов пищевого сырья / А.И. Сницарь, Г.Б. Добрыченко // Ж. Мясная индустрия – 1978. – № 6. – С. 32–34.
5. Ферментативный гидролиз кератинсодержащего сырья для получения белковых гидролизатов / Н.Л. Еремеев, И.В. Николаев, И.Д. Керученко, Е.В. Степанова, А.Д. Сатрудинов, С.В. Зиновьев, Д.Ю. Исмаилова, В.П. Хотченков, Н.В. Цурикова, А.П. Сеницын, В.Г. Волик, О.В. Королева // Прикладная биохимия и микробиология – 2009 – Т. 45 – С. 717–725.
6. Фисинин В.И. Научные основы кормления сельскохозяйственной птицы / В.И. Фисинин, И.А. Егоров, Т.М. Околева, Ш.А. Имангулов // Сергиев Посад. – 2011. – С. 265–288.
7. Шевкунов, К.Ф. Переработка кератинсодержащего сырья / К.Ф. Шевкунов // Мясная индустрия – 1980. – С. 28.
8. Щербаков А.А. Физико-химические свойства кормового белкового гидролизата / А.А. Щербаков. – М.: Мир, 1970. – 89 с.
9. Яцышин А.П. Аминокислотный состав кератинового гидролизата / А.П. Яцышин, А.А. Щербаков, С.Г. Либман // Мясная индустрия. – 1970. – № 3. – С. 36.
10. Balsa-Canto E. Optimal design of dynamic experiments for improved estimation of kinetic parameters of thermal degradation / E. Balsa-Canto, Rodrigues.-M. Fernandes, J.R. Banga // J. Food Eng. – 2007. – V. 82, № 2. – P. 178–188.
11. Cavello I.A. Study of the Production of Alkaline Keratinases in Submerged Cultures as an Alternative for Solid Waste Treatment Generated in Leather Technology / I.A. Cavello, M. Chesini, R.A. Hours, S.F. Cavalitto // J. Microbiol. Biotechnol. – 2013. – V. 23, № 7. – P. 1004–1014.
12. Daroit D.J. Characterization of a keratinolytic protease produced by the feather-degrading Amazonian bacterium *Bacillus* sp. P45 / D.J. Daroit, A.P.F. Corrêa, J. Segalin, A. Brandelli // Biocatalysis and Biotransformation – 2010. – V. 28, № 5–6. – P. 370–379.
13. Dziuba M. Food proteins as precursors of bioactive peptides – classification into families / M. Dziuba, M. Darewicz // Food Sci. Technol. Int. – 2007. – V. 13. – P. 393–404.
14. Endo R. Physical and mechanical properties of waterlogged wood treated with hydrolyzed feather keratin / R. Endo, K. Kamei, I. Iida, M. Yokoyama, Y. Kawahara // Journal of Archaeological Science. – 2010. – V. 37. – P. 1311–1316.
15. Kondos A.C. Nutritional evaluation of meat meals for poultry. Effect of processing temperature on total and biological available amino acids / A.C. Kondos, A.S. Kondos, G.L. McClymout // Australian journal of agricultural research – 1972. – V. 23, № 5. – P. 913–922.
16. Łaba W. Potential of Feather-Degrading *Bacillus polymyxa* and *Bacillus cereus* / W. Łaba, A. Rodziewicz Keratinolytic // Polish J. of Environ. Stud. – 2010. – V. 19, № 2. – P. 371–378.
17. Mahmoud M.I. Physicochemical and functional properties of protein hydrolysates in nutritional products / M.I. Mahmoud // Food technol. – 1994. – P. 89–95.
18. Nagal S. Production of feather hydrolysate by *Elizabethkingia meningoseptica* KB042 (MTCC 8360) in submerged fermentation / S. Nagal, P.C. Jain // Indian J. Microbiol. – 2010. – V. 50. – P. 41–45.