

Обоснование способа определения коллагена в сырье и пищевой продукции

DOI 10.37663/0131-6184-2023-1-91-95

Аспирант **Е.А. Заяц** – кафедра «Технология продуктов питания»;

Доктор технических наук, профессор **Э.Н. Ким** – профессор кафедры «Управление техническими системами» –

Дальневосточный государственный технический рыбохозяйственный университет (ФГБОУ ВО «Дальрыбвтуз»)

@ www.ganya_nic.ru@mail.ru;
kimandama@mail.ru

Ключевые слова:

коллаген, глютин, пищевая продукция, термическая обработка, морская малоротая корюшка

Keywords:

collagen, gluten, food products, heat treatment, small-mouthed sea smelt

JUSTIFICATION OF THE METHOD FOR DETERMINING COLLAGEN IN RAW MATERIALS AND FOOD PRODUCTS

Postgraduate student **E.A. Zayats** – Department of "Food Technology";
Doctor of Technical Sciences, Professor **E.N. Kim** – Professor of the Department "Management of Technical Systems" -
Far Eastern State Technical Fisheries University (FSBEI HE "Dalrybvtuz")

The purpose of the work is to substantiate the method of determining collagen in food products. The paper substantiates the ratio of the sample mass and distilled water during the removal of gluten, the temperature of the removal of gluten, the duration of the removal of gluten, tested the developed method for determining collagen by assessing the collagen content in samples of small-mouthed sea smelt.

Theoretical, physico-chemical, spectrometric and mathematical research methods were used in the work.

ОБОСНОВАНИЕ АКТУАЛЬНОСТИ ТЕМЫ

Одним из перспективных направлений развития рыбохозяйственного комплекса Российской Федерации является разработка и внедрение ресурсосберегающих технологий переработки водного сырья с максимальным использованием традиционных отходов и потерь.

Одним из таких отходов традиционного производства рыбных продуктов является кожа и кости, содержащие функциональный биополимер коллаген – белок, который, благо-

даря своим уникальным свойствам, нашел применение во многих отраслях промышленности. Его ценность заключается в том, что при термической обработке коллаген позволяет получать систему с коллоидными свойствами и образовывать структуру продукта. Коллаген входит в состав препаратов для лечения ран, ожогов и язв, то есть – способности к заживлению. Коллаген используется в косметологии, как средство для восстановления эластичности кожи.

Основной проблемой разработки и внедрения технологии

переработки коллагенсодержащего сырья являются недостаточно достоверные методики оценки его содержания, основанные на определении аминокислотного фрагмента оксипролина, который содержится не только в коллагене, но и в глютине, образующимся при термической обработке коллагена.

Вопросам определения содержания коллагена посвящены работы таких ученых как Л.Я. Прошина, М.Н. Приваленко, Н.Н. Крылова, Ю.Н. Лясковская и др., однако в известных способах коллаген определяется по содержанию в образцах оксипролина, содержащегося также и в продуктах пептизации и гидролиза коллагена.

Исходя из этого, целью настоящей работы является способ определения коллагена в пищевой продукции, основанный на предварительном удалении из пробы глютина, повышающий достоверность результатов оценки.

Для достижения поставленной цели были решены следующие задачи:

- обоснование предварительного удаления глютина из анализируемой пробы;
- обоснование рациональных параметров процесса удаления глютина из анализируемой пробы;
- апробирование результатов исследований.



Кожа минтая



Спектрофотометр

Целью работы является обоснование способа определения коллагена в пищевой продукции. В работе обосновано соотношение масс образца и дистиллированной воды при удалении глютина, температура удаления глютина, длительность удаления глютина, апробирован разработанный способ определения коллагена путем оценки его содержания в образцах морской малоротой корюшки.

В работе использовались теоретические, физико-химические, спектрометрические и математические методы исследования.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

В исследованиях влияния параметров предлагаемого способа определения коллагена на результат определения применялся метод спектрофотометрии. Полученные результаты обрабатывались методами математического и графического моделирования.

АНАЛИЗ СОСТОЯНИЯ ВОПРОСА

Основной вклад в структурообразующие свойства и прочностные характеристики кожного покрова рыб вносят нерастворимый коллаген и его формы – тропоколлаген, растворимый в слабощелочных растворах и растворах нейтральных солей, и проколлаген, растворимый в слабых кислотах [1]. При температуре около 60 °С происходит разрыв водородных связей, удерживающих в структуре коллагена полипептидные цепи, и отщепление большей части полисахаридов [2]. На указанный процесс оказывают влияние органические кислоты копильного дыма [3].

При первоначальном нагреве коллагена, вследствие разрыва водородных связей, происходит процесс, называемый пептизацией, в результате чего образуется глютин – белок, обладающий более слабыми прочностными характеристиками, хорошо набухающий в воде и растворимый в ней уже при температуре 40 °С [2]. При более длительном нагреве происходит гидролиз глютина, вследствие чего образуются продукты его гидролиза – желатозы [4], растворимые в воде с температурой ниже 20 °С.

Таким образом, в результате термической обработки обводненного сырья при температуре 60 °С и выше, происходит пептизация основного структурообразующего белка соединительных тканей – коллагена и образование глютина, представляющего собой водорастворимый белок со слабыми структурными связями. При продолжении термической обработки происходит гидролиз глютина с образованием еще менее пригодных для поддержания целостного кожного покрова соединений – желатоз, растворимых в воде при температуре ниже 20 °С. В результате этих процессов прочностные характеристики кожного покрова сырья значительно снижаются, что приводит к нарушению его целостности [2].

Коллаген, образующий в результате пептизации глютин и желатозы имеет в своем составе

оксипролин – одну из основных аминокислот, содержащуюся только в этой группе белков [5]. Поэтому, при оценке содержания в пробах коллагена известным способом определяется оксипролин и коллагена, и глютина, и желатозы.

Коллаген подвергается денатурации при температуре свыше 60 °С, а глютин начинает неограниченно растворяться в воде при температуре свыше 40°С [2]. Это позволяет удалить глютин при температуре 40-60 °С без возможной трансформации коллагена в глютин. Таким образом, гидролиз пробы при температуре 40-60°С позволяет удалить из анализируемых образцов глютин, дающий реакцию с цветореагентом, и определять оксипролин только коллагена, тем самым повышая достоверность результатов анализа.

Таким образом, предлагаемый способ определения коллагена заключается в том, чтобы поместить измельченную пробу в колбу, залить ее дистиллированной водой и выдерживать на водяной бане с целью экстракции глютина и желатоз в воду, после чего провести цветную реакцию по ГОСТ 33692-2015 «Белки животные соединительнотканые. Общие технические условия».

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Для обоснования соотношения образца и дистиллированной воды в колбе был проведен эксперимент. Объектом исследований была кожа морской малоротой корюшки, приготовленной путем горячего копчения.

Измельченный исследуемый образец помещали в колбу с дистиллированной водой при соотношениях 1:1, 1:2, 1:3, 1:4. Образцы выдерживали на водяной бане при температуре 55°С в течение 120 минут, после чего определяли содержание коллагена в образцах стандартным методом в соответствии с ГОСТ 33692-2015 «Белки животные соединительнотканые. Общие технические условия». Результаты анализа содержания коллагена представлены на рисунке 1.

Результаты анализов показывают, что, при увеличении соотношения массы образца и воды от 1:1 к 1:3, содержание определяемого коллагена растет, а при дальнейшем увеличении этого соотношения практически не изменяется. Чем выше объем дистиллированной воды, тем бо-

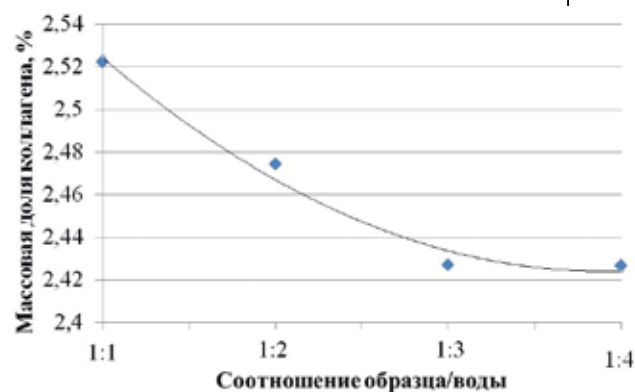


Рисунок 1. Результаты определения содержания коллагена при различных соотношениях масс образца и дистиллированной воды

Figure 1. The results of the determination of the collagen content at different mass ratios of the sample and distilled water

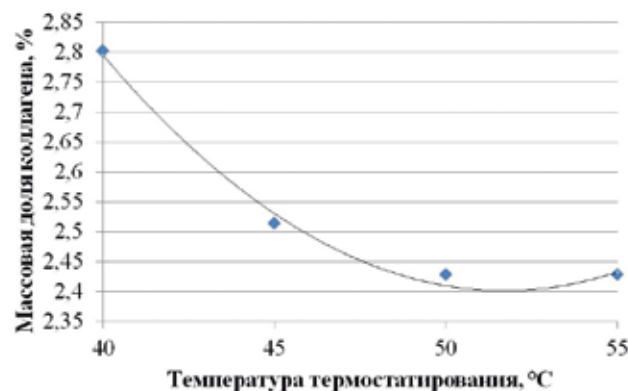


Рисунок 2. Результаты определения содержания коллагена при различных температурах термостатирования проб

Figure 2. Results of determination of collagen content at different temperatures of temperature control of samples

лее полно удаляется глютин из пробы. Однако, при увеличении доли дистиллированной воды до 1:4, значение массы коллагена практически не меняется. Разница в получаемых образцах объясняется тем, что выделение глютина из изучаемых образцов происходит путем диффузии,



Цветная реакция оксипролина

движущей силой которой является разница концентраций глютина в образце и растворителе (дистиллированной воде), которая всегда стремится к равновесию [6].

Полученные сведения говорят о возможности использования в предлагаемом способе соотношения образца и воды 1:3.

В следующем эксперименте варьировалась температура выдерживания образцов на водяной бане.

Образцы выдерживали на водяной бане при температурах 40-65 °С в течение 120 минут. Результаты анализа содержания коллагена представлены на рисунке 2.

При увеличении температуры от 40 до 65 °С содержание коллагена в одинаковых пробах уменьшалось, что свидетельствует о положительном влиянии температуры термостатирования в выбранном диапазоне на процесс уда-

ления из проб глютина. При температурах от 50 до 55 °С значение массы коллагена в пробе практически не меняется, что свидетельствует о полном извлечении глютина из пробы. При увеличении температуры с 55 до 65 °С установлено уменьшение значений содержания коллагена, что свидетельствует о возможной трансформации коллагена в глютин и его удаление из анализируемой пробы. Это предположительно связано с тем, что при достижении температуры 60 °С началась пептизация коллагена, вследствие разрыва водородных связей, с образованием глютина, который, в свою очередь, начал растворяться в горячей воде [2].

Исходя из этого, рациональной температурой при гидролизе можно считать 50-55 °С.

В следующем эксперименте варьировалась длительность выдерживания образцов на водяной бане.

Образцы, залитые дистиллированной водой в соотношении 1:3 выдерживали на водяной бане при температуре 55 °С в течение 60-240 минут. Результаты анализа содержания коллагена представлены на рисунке 3.

Установлено, что при увеличении продолжительности термостатирования от 60 до 180 минут доля коллагена уменьшается, а при большем периоде остается практически неизменной. Это свидетельствует, что в течении 180 минут практически весь глютин удаляется из пробы. Исходя из этого, достаточным временем термостатирования проб можно считать 180 минут.

Исходя из указанных примеров, можно сделать вывод, что рациональными параметрами выдерживания образцов в дистиллированной воде на водяной бане с целью удаления глютина являются:

- соотношение объемов образца и дистиллированной воды 1:3;
- температура водяной бани при выдерживании 50-55 °С;
- продолжительность выдерживания 180 минут.

Следующим этапом была проведена апробация разработанного способа, путем определения содержания коллагена в образцах кожи морской малоротой корюшки с разной длительностью термической обработки при 100 °С. Была определена массовая доля коллагена в соответствии с ГОСТ 33692-2015. Первый этап включал предварительное удаление глютина по разработанному способу, а во втором случае определялось содержание коллагена в образцах без предварительного удаления глютина. Полученные результаты отображены на рисунке 4.

Исходя из данных таблицы, в образцах кожи с определенной длительностью термической обработки массовая доля коллагена, определенная без предварительного этапа глютина, выше по сравнению с результатами, полученными предлагаемым способом. При определении, с применением разработанным способом, прослеживается тенденция денатурации коллагена в процессе обработки морской малоротой корюшки при 100 °С, в зависимости от длительности термической обработки.

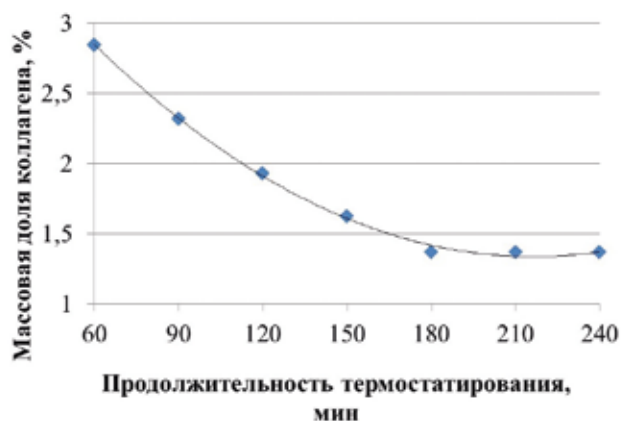


Рисунок 3. Результаты определения содержания коллагена при различной продолжительности термостатирования проб

Figure 3. Results of determination of collagen content at different duration of temperature control of samples

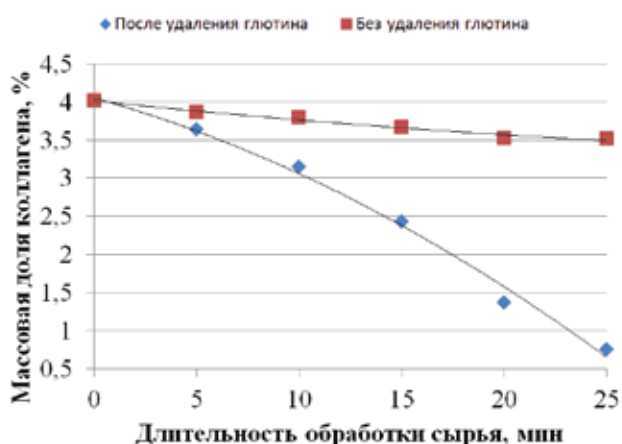


Рисунок 4. Результаты определения содержания коллагена

Figure 4. Results of determination of collagen content

Таким образом, при оценке содержания в пробах коллагена способом без предварительного удаления посторонних белков, определяется оксипролин коллагена, глютина и желатозы, а при оценке содержания коллагена с предварительным разработанным способом, посторонние белки предварительно удаляются и результатом определения становится содержание именно коллагена.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Необходимость удаления глютина объясняется тем, что в процессе предварительной обработки коллагенсодержащего сырья происходит частичная денатурация коллагена с трансформацией его в глютин, обладающий функциональными свойствами в меньшей степени. Более того, глютин в своем составе также содержит оксипролин, дающий цветную реакцию при определении содержания коллагена.

2. Обоснованы рациональные параметры процесса удаления глютина из анализируемой пробы. Рациональными параметрами выдерживания образцов в дистиллированной воде на водяной бане, с целью удаления глютина являются:

- соотношение объемов образца и дистиллированной воды 1:3;
- температура водяной бани при выдерживании 50-55°C;
- продолжительность выдерживания 180 минут.

3. Проведен анализ содержания коллагена в одинаковых образцах с предварительной тепловой обработкой по ГОСТ 33692-2015 и с добавлением предварительно разработанного этапа удаления коллагена. Массовая доля коллагена, определенная без предварительного этапа глютина, выше по сравнению с результатами, полученными предлагаемым способом. При определении, с применением разработанным способом, прослеживается тенденция денатурации коллагена в процессе обработки морской малоротой корюшки при 100 °C, в зависимости от длительности термической обработки.

Статья подготовлена по материалам НИР «Разработка технологии консервов «Шпроты в масле» из рыб дальневосточного бассейна», выполненной в рамках гранта ФГБОУ ВО «Дальрыбвтуз».

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Вклад в работу авторов: Э.Н. Ким – идея работы, подготовка введения, заключения, окончательная проверка статьи; Е.А. Заяц – сбор и анализ данных, подготовка статьи.

The authors declare that there is no conflict of interest.

Contribution to the work of the authors: E.N. Kim – the idea of the work, preparation of the introduction, conclusion, final verification of the article; E.A. Zayats – data collection and analysis, preparation of the article.



ЛИТЕРАТУРА И ИСТОЧНИКИ / REFERENCES AND SOURCES

1. Плиева Р.А., Арчакова Р.Д., Ужахова Л.Я., Султыгова З.Х., Темирханов Б.А., Ялхороева М.А., Дидигова Л.А., Китиева Л.И. Изучение химического состава рыбных шкур // Colloquium-journal. 2019. №2-2 (26). URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/izuchenie-himicheskogo-sostava-rybnyh-shkur> (дата обращения: 19.11.2022).
1. Plieva R.A., Archakova R.D., Uzhakhova L.Ya., Sultygova Z.Kh., Temirkhanov B.A., Yal-khoroeva M.A., Didigova L.A., Kitieva L.I. Studying the chemical composition of fish skins // Colloquium-journal. 2019. №2-2 (26). URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/izuchenie-himicheskogo-sostava-rybnyh-shkur> (date of application: 11/19/2022).
2. Мурашев С.В. Влияние разрушения структуры коллагена на гидрофильные свойства продуктов этого процесса // Научный журнал НИУ ИТМО. Серия «Процессы и аппараты пищевых производств». – 2013. – №. 3. – С. 23.
2. Murashev S.V. The effect of the destruction of the collagen structure on the hydrophilic properties of the products of this process // Scientific Journal of the ITMO Research Institute. The series "Processes and apparatuses of food production". – 2013. – No. 3. – p. 23.
3. Курко В.И. Химия копчения М.: Пищевая промышленность, 1969. – 319 с.
3. Kurko V.I. Chemistry of smoking M.: Food industry, 1969. – 319 p.
4. Янушкин Н.П., Лагоша И.А. Технология мяса и мясопродуктов и оборудование мясокомбинатов. – М.: Пищевая промышленность, 1970. – 662 с.
4. Yanushkin N.P., Lagosha I.A. Technology of meat and meat products and equipment of meat processing plants. – M.: Food industry, 1970. – 662 p.
5. Становова И.А., Иванкин А.Н., Курзова А.А. Методические подходы к определению развариваемости коллагена. – М.: Международная научно-практическая конференция, посвященная памяти Василия Матвеевича Горбатова. – 2017. – № 1. – С. 317-319.
5. Stanovova I.A., Ivankin A.N., Kurzova A.A. Methodological approaches to the determination of collagen digestibility. - Moscow: International scientific and practical conference dedicated to the memory of Vasily Matveevich Gorbato. – 2017. – No. 1. – Pp. 317-319.
6. Васильева В. И. Селективное выделение ионов натрия из смеси с фенилаланином доннановским диализом с профилированной сульфокатионообменной мембраной / В.И. Васильева, Е.А. Голева // Журнал физической химии. – 2013. – Т. 87. – № 11. – С. 1925. – DOI 10.7868/S0044453713110253.
6. Vasilyeva V. I. Selective isolation of sodium ions from a mixture with phenylalanine by Donnan dialysis with a profiled sulfocation exchange membrane / V.I. Vasilyeva, E.A. Goleva // Journal of Physical Chemistry. – 2013. – Vol. 87. – No. 11. – p. 1925. – DOI 10.7868/S0044453713110253.