

Ж.Б. СУЛЕЙМЕНОВА, Р.К. БЛИЕВА

КОЛЛАГЕНАЗА И ЕЕ ИСПОЛЬЗОВАНИЕ В БИОТЕХНОЛОГИИ

(Институт микробиологии и вирусологии МОН РК)

Обзор посвящен использованию в мясной промышленности фермента коллагеназы микробного происхождения, позволяющего повышать потребительские свойства низкосортного сырья, обогащать и придавать готовому продукту высокие качественные показатели.

Одним из подходов, используемых в мире для преодоления белкового дефицита, является применение в мясной промышленности микробных ферментов, позволяющих повышать потребительские свойства низкосортного сырья, обогатить и придать готовому продукту высокие качественные показатели. Только 17-20% мясной туши отличается мягкостью и сочностью, тогда как остальная часть содержит богатую коллагеном соединительную ткань, определяющую в зависимости от его количества жесткость мясного сырья, особенно низкосортной ее части [1,2]. Целенаправленное применение ферментов для обработки соединительной ткани является новым направлением, позволяющим создать безотходные и безопасные технологии. Ферментная обработка коллагенсодержащего мясного сырья позволит получить не только традиционные мясные продукты, но и продукты для диетического и лечебного питания с высокими пищевыми ценностями.

Ранее предпринималась не одна попытка использования протеолитических ферментов (протосубтилин, пепсин и др.) для размягчения низкосортного мясного сырья. Однако, эти ферменты не получили широкого применения по ряду

причин, одной из которых является недостаточно высокая их активность по отношению к коллагену. Отсюда очевидная целесообразность применения ферментных препаратов, обладающих коллагеназной активностью, устраняющих негативное влияние соединительной ткани на консистенцию продукта. Таким ферментом, способным атаковать нативный коллаген является коллагеназа, которая расщепляет пептидные связи на определенных участках молекулы коллагена. Они гидролизуют связи X'-aly-Pro-у и способны расщеплять цепь коллагена более чем в двухстах участках. Коллаген – это фибрillлярный нерастворимый белок. Он широко распространен в животных тканях, главным образом в соединительных, где он образует пучки фибрилл, количество которых в низкосортном мясе особенно велико. Коллаген чрезвычайно чувствителен к ферментативной атаке и не переваривается в желудке. Для его направленного гидролиза необходима специфическая коллагеназа, действующая на коллаген сильнее, чем на синтетические пептиды, построенные по типу коллагена [3].

Протеолитические ферменты синтезируются практически всеми живыми существами. В

промышленных целях в качестве источника протеиназ используются животные ткани, растения и клетки. Наиболее перспективным источником протеиназ следует признать микроорганизмы по ряду существенных преимуществ, связанных прежде всего с неограниченностью источников, возможностью широко варьировать методами селекции и генной инженерии, подбором условий биосинтеза, широким спектром ферментных комплексов и глубиной воздействия на различные субстраты, а также простотой и относительной дешевизной технологии [4,5,6].

Современный уровень науки и техники позволяет получить не только комплексные, но и гомогенные, кристаллические ферменты. Их, как правило, выделяют непосредственно из биомассы гриба или культуральной жидкости глубинной культуры, а также из экстрактов поверхностных культур. Так, например в кристаллическом виде получены субтилизин - КФ 3.4.21.14, сериновая эндопептидаза *Alternaria* - КФ 3.4.21.16, сериновая протеиназа *Arthrobacter* - КФ 3.4.21.14, кислая протеиназа *Aspergillus oryzae* - КФ 3.4.23.6, кислая протеиназа *Penicillium janthinellum* - КФ 3.4.26.6. и другие ферменты [7,8,9,10]. Часто под одним номером находится несколько ферментов, получаемые из различных источников, но имеющие сходные свойства. В промышленности чаще всего получают комплекс протеолитических ферментов, достоинства которого определяются с учётом аспектов последующего применения ферментного препарата.

Многие широко распространённые микроорганизмы секрецируют значительное количество протеолитических биокатализаторов в окружающую среду, что значительно облегчает задачу их выделения и очистки. Возможность управления образованием ферментов за счёт подбора соответствующей питательной среды и условий культивирования позволяет не только увеличить выход протеолитических ферментов, но и получать ферментные препараты с определёнными свойствами. Методы селекции и генной инженерии значительно увеличивают возможности целенаправленного биосинтеза ферментов. Большое внимание, уделяемое изучению протеолитических ферментов микроорганизмов, привело к получению значительного числа препаратов бактериальных и грибных протеиназ в высокоочищенном состоянии [11]. В качестве препаратов протеолитических ферментов микробного происхождения были испытаны мегаторин Г-10х и протосуб-

тилин Г-10х, продуцентами которых являются *Bacillus megaterium* и *Bacillus subtilis*, соответственно. Было изучено действие этих препаратов на свойства низкосортного мясного сыра [12].

Дефицит животноводческого сырья, который в последние годы испытывает мясная промышленность, требует создания технологий и средств выработки продукции, отвечающих медико-биологическим требованиям из сырья с различными отклонениями качественных и функциональных показателей. Выполнению этой задачи должно способствовать развитие теоретических исследований процессов структурообразования, протекающих в мясе при хранении и технологической обработке, в том числе с использованием биотехнологических приемов, позволяющих интенсифицировать процесс производства мясных продуктов и рационально использовать сырье с низкими функционально-технологическими свойствами. Решение этих вопросов неразрывно связано с разработкой комплекса показателей объективной и надежной оценки качества сырья и готовой продукции за счет использования новых аналитических методов, которые должны соответствовать передовому уровню науки и технологии. Обеспечение устойчивого подъёма в этом направлении может быть достигнуто за счет разработки эффективных микробных препаратов [13,14].

Одним из наиболее перспективных направлений является разработка новых препаратов на основе коллагеназы из гидробионтов. Действие данного ферментного комплекса не ограничено только гидролизом тройной спирали нативного коллагена: крупные фрагменты коллагеновых молекул подвергаются дальнейшему гидролизу, вплоть до индивидуальных аминокислот. Полученный ферментный комплекс коллагеназы обеспечивает значительно большую, по сравнению с другими протеолитическими ферментами, глубину гидролиза коллагеновых белков, наиболее трудно расщепляемых пищеварительными ферментами [15].

К коллагеназам животного происхождения относятся коллагеназы, выделяемые из хвоста головастиков в период метаморфоза, поджелудочной железы убойного скота. В последние годы коллагеназу получают из гепатопанкреаса камчатского краба, которую выпускают в промышленных масштабах на заводе «Прогресс». Испытания последней на низкосортной говядине свидетельствуют о возможности использования

этого фермента для тендеризации низкосортного сырья, богатого соединительными включениями. В институте молекулярной генетики РАН, институте биохимии и физиологии микроорганизмов имени Г.К. Скрябина создан ферментный препарат коллагеназа, продуцируемый *Serratia proteamaculans*-94. Микроструктурный анализ полученных образцов свидетельствует о достаточно активном действии коллагенолитического ферментного препарата на соединительную ткань [16].

Известно несколько способов обработки мяса ферментами: инъекции раствора в кровеносную систему животных, шприцевание раствора фермента в шею, поверхностная обработка мяса ферментами, добавление ферментного раствора к мясному фаршу. Наиболее приемлемым методом для современного производства оказалось шприцевание ферментного раствора в шею. В состав шприцуемого раствора кроме ферментного препарата входит поваренная соль и пищевые добавки [17]. Характер и глубина изменений внутримышечной соединительной ткани под действием протеолитических ферментов зависит от специфичности протеиназ, содержащихся в препаратах. Наиболее глубокие изменения соединительнотканых прослоек происходили под действием фицина, т. к. этот фермент способен гидролизовать нативный эластин при естественном pH мяса. Что касается пищевых ферментных препаратов микробного происхождения, не обладающих коллагеназной и эластазной активностью, то их действие на внутримышечную соединительную ткань ограничивается освобождением коллагеновых волокон от «цементирующего» их основного вещества. Это способствует снижению устойчивости коллагеновых волокон к гидротермическому воздействию и более быстрому размягчению мяса в процессе тепловой обработки [18].

ЛИТЕРАТУРА

1. Антипова Л.В., Глотова И.А. Основы рационального использования вторичного коллагенсодержащего сырья мясной промышленности. Воронеж. 1997. С.246.
2. Криштафорович В.И. и др. Микроструктурные изменения мышечной и соединительной ткани при ферментировании // Мясная индустрия. 2003. N2. С. 15-17.
3. Кочетов Г.А. Практическое руководство по энзимологии. М.: Высшая школа. 1980. С. 272.
4. Середа А.С. и др. Селекция штамма *Bacillus licheniformis* – продуцента щелочной протеазы. В сб. «Микробные биокатализаторы для перерабатывающих отраслей АПК» Москва, ВНИИПТБ. 2006. С.15-21.
5. Морозова К.А., Римарева Л.В., Оверченко М.Б., Си-

ницын А.П. Селекция штамма микромицета *Aspergillus oryzae* – продуцента комплекса экзогидролаз. В сб. «Микробные биокатализаторы для перерабатывающих отраслей АПК» Москва, ВНИИПТБ. 2006. С. 10-15.

6. Семенова М.В. и др. Состав и свойства ферментного комплекса, секретируемого высокопродуктивными мутантными штаммами *Aspergillus awamori*, используемыми в спиртовой промышленности. В сб. «Микробные биокатализаторы для перерабатывающих отраслей АПК» Москва, ВНИИПТБ. 2006. С. 77-81.

7. Marcus D. "Subtilisin variants capable of cleaving substrates containing dibasic residues" // US Patent N5741664. 1998.

8. Sodek J, Hofmann T. A pepsin-like enzyme from *Penicillium janthinellum* // J. Biol. Chem. 1968. Jan 25. 243(2). P. 450–451.

9. Tsujita Y. and Endo A.. Extracellular acid protease of *Aspergillus oryzae* grown on liquid media: multiple forms due to association with heterogeneous polysaccharides // J. Bacteriol. 1977. April. 130(1). P. 48–56.

10. Shetty, Jayarama K. Recovery of acid fungal protease / / US Patent N 4532213. 1985.

11. Odibo F.I., Obi S.K. Purification and some properties of a thermostable protease of *Jherm. Thal* // J. Appl. Microbiol. and Biochem. 1988. V.3. P. 327–332.

12. Антипова Л.В. и др. Применение ферментного препарата мегатерин Г-10х для обработки низкосортного мяса // Мясная индустрия. 2003. N8. С. 9-11.

13. Антипова Л.В., Кочергина Н.И. Специальные микробные препараты ферментов в рациональном использовании вторичного мясного сырья. // Всесоюз. науч.-техн. конф. «Совершенствование технологических процессов производства новых видов пищевых продуктов и добавок. Использование вторичного сырья пищевых ресурсов». Киев, 1991. Ч.1. С.222.

14. Антипова Л.В., Глотова И.А., Кочергина Н.И. Микробные ферментные препараты для обработки вторичного сырья мясной промышленности. // Конференция «Биосинтез ферментов микроорганизмами». Москва, 26 – 27 октября 1993. С.33.

15. «Лекарства из океана» // «Фармацевтический вестник» 2000. N24(175).

16. Бойко О.А., Кузнецова Т.Г. Воздействие коллагенолитического препарата на структуру мясного сырья // Мясная индустрия. 2004. N4. С.47-49.

17. Кузнецова Т.Г. Научно-практические основы структуро-образования мясопродуктов из сырья различного качества в условиях направленных биотехнологических воздействий // Автор. дисс. докт. вет. наук. Москва, 2007.

18. Meat tenderization with a thermolabile protease. // US Patent. N773534, 2005.

Резюме

Ет өндіру шаруашылығында құндылығы төмен шикізаттан өндірілетін өнімнің сапасын жоғарылататын микробтан алғынған коллагеназа фермент туралы баяндалған.

Summary

The review is devoted to use collagenase in meat industry allowing to raise properties of low-grade raw materials to enrich and give to a ready product high quality.