

ПРОТЕПСИН ФЕРМЕНТИНІҢ ЖҰМЫС ПАРАМЕТРЛЕРІН ЖӘНЕ ОНЫҢ ЕКІНШІ СҰРЫПТЫ СИЫР ЕТІНІҢ МИКРОҚҰРЫЛЫМЫНА ӘСЕРІН ЗЕРТТЕУ

¹А.Н. ЕСЕНГАЗИЕВА* , ²Л.А. КАЙМБАЕВА , ¹Я.М. УЗАКОВ 

³И.М. ЧЕРНУХА , ¹Г.К. КУЗЕМБАЕВА 

¹ («Алматы технологиялық университеті» АҚ, Қазақстан, 050012, Алматы қ., Төле би, 100

² «Қазақ ұлттық аграрлық зерттеу университеті», Қазақстан, 050021, Алматы, Абай даңғылы, 28

³ Ресей Ғылым Академиясының «В. М. Горбатов ат. тағам жүйелері федералды ғылыми орталығы» Федералдық мемлекеттік бюджеттік ғылыми мекемесі, 109316, Москва қ., Талалихина көш., 26)



Автора-корреспонденттің электрондық поштасы: aesengazy@bk.ru*

«Протепсин» - құрамында қышқыл протеиназалар кешені бар жануарлар табиғатының ферменттік препараты ет өнеркәсібінде ет шикізатын өңдеу үшін қолдануға арналған. Препараттың ферменттік құрамы ет өнімдерін алу технологиясында қолданылатын ет пен ет жүйе-лерінің әртүрлі ақуыздарына әсер ету дәрежесі бойынша теңдестірілген. «Протепсин» ет жүйесінде жасушаішілік ферменттерге (катепсиндер) ұқсас жұмыс істейді. Ол олардың синергисті болып табылады және оған технологиялық параметрлердің кең ауқымында әрекет етуге, сондай-ақ жасушаішілік ферменттер әсер етпейтін немесе шамалы әсер ететін ақуыз жүйелеріне әсер етуге мүмкіндік беретін қосымша қасиеттерге ие [1]. Жұмыстың практикалық маңыздылығы-жартылай ысталған шұжық өнімдері халық арасында ерекше сұранысқа ие. Бәсекеге қабілетті ортада олардың сапасын сақтай отырып, өзіндік құнның төмендеуі уақыт талабы болып табылады. Сондықтан ферментті қолдану ет өңдеу саласындағы перспективалы бағыттардың бірі болып табылады [1]. Жұмыстың мақсаты – «Протепсин» ферментінің жұмыс параметрлерін және оның екінші сұрыпты сиыр етінің микроқұрылымына әсерін зерттеу. Гистологиялық өзгерістер ферменттің ет сапасының көрсеткіштерінің дамуына оң әсерін сипаттайды. Осыған байланысты ет шикізатын «Протепсинмен» өңдеу жетілді ұзақтығының айтарлықтай қысқаруына әкеледі, бұл автолиздің табиғи жолымен салыстырғанда қысқа мерзімде қажетті өзгерістерге қол жеткізуге мүмкіндік береді.

Негізгі сөздер: «Протепсин», протеолитикалық фермент, препараттың белсенділігі, температураның әсері, микроқұрылым.

ИЗУЧЕНИЕ РАБОЧИХ ПАРАМЕТРОВ ФЕРМЕНТА ПРОТЕПСИН И ВЛИЯНИЕ ЕГО НА МИКРОСТРУКТУРУ ГОВЯДИНЫ ВТОРОГО СОРТА

¹А.Н. ЕСЕНГАЗИЕВА* , ²Л.А. КАЙМБАЕВА , ¹Я.М. УЗАКОВ 

³И.М. ЧЕРНУХА , ¹Г.К. КУЗЕМБАЕВА 

¹(АО «Алматинский технологический университет», Казахстан, 050012, г. Алматы, ул. Төле би, 100

² «Казахский национальный аграрный исследовательский университет», Казахстан, 050021, Алматы, пр. Абая, 28

³ ФГБНУ «ФНЦ пищевых систем им. В.М. Горбатова» РАН, Российская Федерация, 109316, г.Москва, ул. Талалихина, 26)

Электронная почта автора-корреспондента: aesengazy@bk.ru*

«Протепсин» – энзимный препарат животной природы, содержащий комплекс кислых протеиназ, предназначен для применения в мясной промышленности для обработки мясного сырья. Ферментный состав препарата сбалансирован по степени воздействия на различные белки мяса и мясных систем, применяющихся в технологии получения мясных продуктов. «Протепсин» работает в мясной системе аналогично внутриклеточным ферментам (катепсином). Он является их синергистом и обладает дополнительными качествами, которые позволяют ему воздействовать в более широком

диапазоне технологических параметров, а также влиять на те белковые системы, на которые внутриклеточные ферменты не действуют или оказывают действие в незначительной степени [1]. Практическая значимость работы заключается в том, что полукопченые колбасные изделия пользуются особым спросом у населения. Снижение себестоимости при сохранении их качества в конкурентной среде является требованием времени. Поэтому применение фермента является одним из перспективных направлений в области мясопереработки [1]. Цель работы - изучить рабочие параметры фермента протепсина и его влияние на микроструктуру говядины второго сорта. Гистологические изменения характеризуют положительное влияние фермента на развитие показателей качества мяса. В связи с этим обработка мясного сырья «Протепсином» приводит к значительному сокращению продолжительности созревания мяса, что позволяет добиться необходимых изменений в более короткие сроки по сравнению с естественным путем автолиза.

Ключевые слова: «Протепсин», протеолитический фермент, активность препарата, влияние температуры, микроструктура.

STUDY OF THE WORKING PARAMETERS OF THE ENZYME PROTEPSIN AND ITS EFFECT ON THE MICROSTRUCTURE OF SECOND-GRADE BEEF

¹A.N. YESSENGAZIYEVA*, ²L.A. KAIMBAYEVA, ¹Y.M. UZAKOV,
³I.M. CHERNUKHA, ¹G.K. KUZEMBAEVA

(¹ JSC "Almaty Technological University", Kazakhstan, 050012, Almaty, Tole bi str., 100)

² «Kazakh National Agrarian Research University», Kazakhstan, 050021, 28 Abay Ave., Almaty

³ «The Gorbatov's All Russian Meat Research Institute» 109316, 26 Talalikhin Str.,
Moscow, Russian Federation)

Corresponding author e-mail: aesengazy@bk.ru*

"Protepsin" is an enzyme preparation of animal nature containing a complex of acid proteinases, intended for use in the meat industry for processing meat raw materials. The enzyme composition of the preparation is balanced according to the degree of exposure to various proteins of meat and meat systems used in the technology of obtaining meat products. "Protepsin" works in the meat system similarly to intracellular enzymes (cathepsins). It is their synergist and has additional qualities that allow it to act in a wider range of technological parameters, as well as to influence those protein systems on which intracellular enzymes do not act or have an effect to an insignificant extent [1]. The practical significance of the work lies in the fact that semi-smoked sausage products are in particular demand among the population. Cost reduction while maintaining their quality in a competitive environment is a time requirement. Therefore, the use of the enzyme is one of the promising directions in the field of meat processing [1]. The aim of the work is to study the working parameters of the enzyme "Protepsin" and its effect on the microstructure of second-grade beef. Histological changes characterize the positive effect of the enzyme on the development of meat quality indicators. In this regard, the processing of meat raw materials with "Protepsin" leads to a significant reduction in the duration of maturation of meat, which makes it possible to achieve the necessary changes in a shorter time compared with the natural way of autolysis.

Keywords: "Protepsin", proteolytic enzyme, drug activity, temperature effect, microstructure.

Кіріспе

Ет пен ет өнімдерінің сапасын бағалау кезінде құрылымдық-механикалық көрсеткіштер маңызды. Етті, химиялық немесе физикалық жұмсартудың бірнеше жолы бар, олар негізінен миофибриллярлық ақуыздардың айтарлықтай деградациясын тудырмай дәнекер тінінің мөлшерін азайтады [2-17]. Протеолитикалық ферменттермен өңдеу етті жұмсартудың ең танымал әдістерінің бірі [1-2].

Протеолитикалық ферменттер - бұл ақуыздың жалпы қорытылуынан бастап нақты реттелетін процестерге дейінгі физиологиялық функциялары бар ферменттердің көп функциялы класы.

Протеолитикалық бағыттағы ферменттердің ішінде Ресейде өндірілетін «Протепсин» ферменті ерекше орын алады.

Препарат тауықтардың бұлшықет асқазанынан жасалады. Өндірушінің ақпаратына сәйкес [1] ферменттік препарат сүт ұю әсері

бар қышқыл протеазалар кешенін қамтиды және ет шикізаты мен оны қайта өңдеу өнімдерін өңдеуге ұсынылады. Препараттың протеолитикалық кешенінің құрамында ет пен ет жүйелерінің әртүрлі ақуыздарына әсер ететін ферменттер бар. Ет ақуыздарына әсер еткенде тіндік ферменттерге катепсиндерге ұқсас қасиеттерді көрсетеді. «Протепсин» - ақшыл сұр түсті ұнтақ, протеолитикалық белсенділік деңгейі бойынша шығарылады: 50, 100 және 150 бірлік / г. Ет өнімдерін өндіру кезінде «Протепсин» өнімнің салмағына 0,01 ÷ 0,05% мөлшерінде қолданылады.

Препараттың жұмыс белсенділігі 20-45°C температурада көрінеді. Ет жүйелеріндегі ферменттің оңтайлы температурасы 40-45°C. Фермент кешенінің протеазаларын толық инактивациялау 70 °C температурада 15 минут ішінде жүреді. Препаратты енгізудің ұсынылатын нормасы рН 4,5÷6,0 болатын жүйенің күйіне арналған [1].

Жұмыстың мақсаты-протепсин ферментінің жұмыс параметрлерін және оның екінші сұрыпты сиыр етінің микроқұрылымына әсерін зерттеу.

Зерттеу материалдары мен әдістері

Протеолитикалық белсенділікті анықтау

Протеолитикалық белсенділік (ПБ) МЕМСТ 20264.2-74 сәйкес анықталды. Субстрат ретінде натрий казеинатының 2%

ерітіндісі қолданылды, оған 2 см³ фермент ерітіндісі қосылып, ультратермостатқа 30°C температурада орналастырылды.

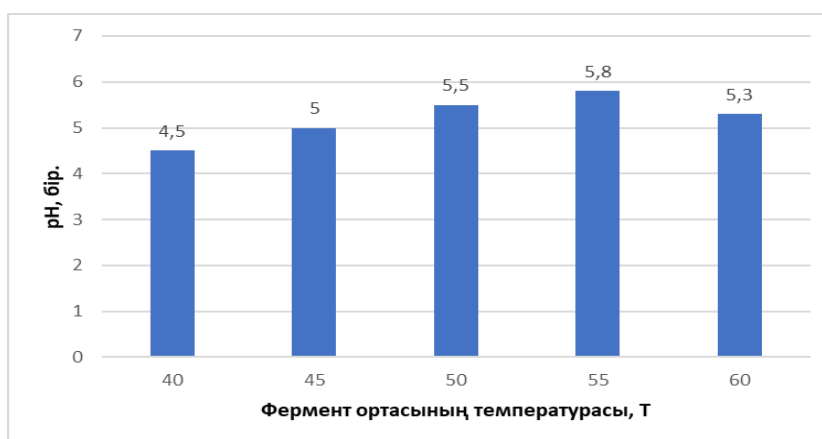
Гидролизден кейін 10 минут ішінде тәжірибелік пробиркаға 4 см³ үшхлорсірке қышқылының ерітіндісі құйылды. 30°C температурада тағы 20 минут тұрғызылды. Содан кейін құрғақ пробиркаларға сүзілді. 1 см³ сүзіндіге 5 см³ 0,5 м натрий карбонатының ерітіндісі қосылып, араластырылып, 1 см³ Фолин жұмыс ерітіндісі қосылды. 30 минуттан кейін ФЭК-те КФК-2 ерітіндісінің оптикалық тығыздығы бақылаумен салыстырылып, 10 мм жарық сіңіретін қабаты бар кюветтерде 670 нм кезінде өлшенді. 1 минут ішінде 30°C температурада 1 ммоль тирозинге (1 ммоль тирозин 0,181 мг-ға тең) сәйкес келетін мөлшерде натрий казеинаты гидролизінің үшхлорсірке қышқылымен тұндырылмайтын өнімдеріне ауысуды катализдейтін ферменттің мөлшері алынады [18].

Нәтижелер және оларды талдау

«Протепсин» әсерінің оңтайлы жағдайларын белгілеу үшін рН және температура мәндері анықталды.

30 минут ішінде сиыр етінің гидролизі 40-60°C температуралық параметрлерде жүргізілді.

Ферменттің температурасы 55 °C болғанда рН мәні 5,8 бірлікті құрады.



Сурет 1– «Протепсин» ферментінің белсенді қышқылдығына температураның әсері

Оңтайлы ферментативті реакция 50-55°C температурада байқалды. 60°C кезінде Протепсин протеолитикалық белсенділігін жоғал-

тады. 1-кестеде «Протепсин» ферментінің көрсеткіштері көрсетілген.

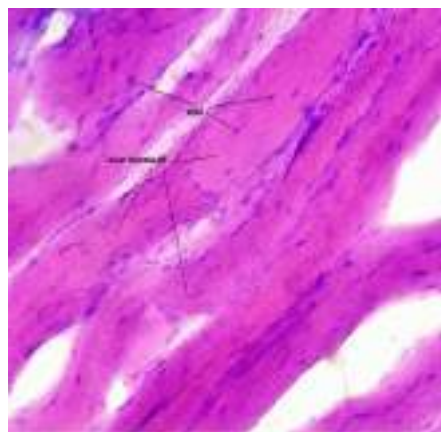
Кесте 1 – «Протепсин» ферментінің көрсеткіштері

Көрсеткіштердің аталуы	Өлшем бірлігі	Көрсеткіштердің мәні
Жалпы белсенділік	бірл	386±3,1
Ақуыз	мг/см ³	0,120±0,02
Жалпы ақуыз	100 г шаққанда мг	32,6±0,28
Фермент салмағы	мг	246±2,5
Белсенділік шығымы	%	88,6±1,66

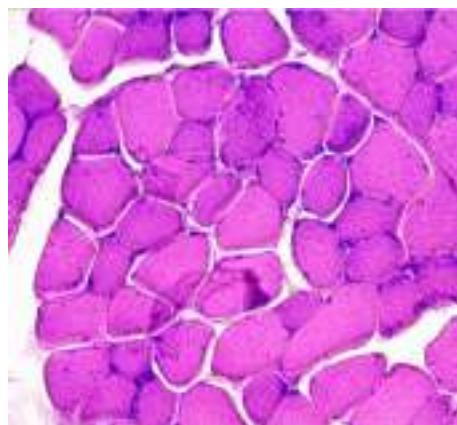
Ферменттердің әсер ету тереңдігі мен белсенділігін анықтаудың ең объективті әдісі микроқұрылымдық болып табылады. Әдіс ерте кезеңдерде тіндер мен жасушалардың құрылымының өзгеруін анықтауға мүмкіндік береді, бұл сыртқы факторлардың әсерінен технологиялық процестерді нақты басқаруға және ет өнімдерінің сапасы мен тұтынушылық қасиеттерінің деңгейіне, тағамдық және

биологиялық құндылығына болжам жасауға мүмкіндік береді.

Жүргізілген микроқұрылымдық зерттеулер «Протепсин» ферментінің лизосома-лық ферменттердің әсерін күшейтетінін көрсетті, бұл тұздануды және пісуді 6-8 сағат ішінде аяқтауға мүмкіндік береді, бұл дәстүрлі тұздан 1,8-2,5 есе аз.



а



б

Сурет 2– Сияр етінің бақылау үлгілерінің бұлшықет тінінің микроқұрылымы: а – ферменттеуге дейін; б – ферменттеуден кейін

«Протепсин» ферментімен гидролизделген екінші сұрыпты сияр етінің бұлшықет тінінің микроқұрылымын зерттеу нәтижесінде ферментпен гидролиздеу кезіндегі еттің гистологиялық өзгерістері бұлшықет талшықтарының фрагменттерге бөлінуімен, миофибриллалардың түйіршікті жерлерге ыдырауымен ерекшеленді деген қорытынды жасалды. Сонымен қатар, түйіршікті учаскелер астындағы сарколемманың тұтастығы сақталды. Эндомизияның коллаген талшықтары ісінумен, ыдыраумен және жойылуымен сипатталды.

Қорытынды

Өзгерістер ферменттің ет сапасының көрсеткіштерінің дамуына оң әсерін сипаттайды. Осыған байланысты ет шикізатын «Протепсинмен» өңдеу еттің жетілу ұзақ-

тығының едәуір қысқаруына әкеледі, осылайша автолиздің табиғи жолымен салыстырғанда қысқа мерзімде қажетті өзгерістерге қол жеткізуге мүмкіндік береді.

Протепсин ферментімен ферментативті өңдеу ондағы автолиздік процестердің сипатына қарамастан, әртүрлі ет кешендерінің деструкциясы үшін тиімді, сондықтан зерттелген өзгерістер еттің бастапқы рН мәніне тәуелді емес.

Протеолиздің ақырғы кезеңдерінде зерттелген өзгерістер ет шикізатының бұзылу процестеріне ұқсас екенін атап өткен жөн. Осыған байланысты улы өнімдердің пайда болуына әкелуі мүмкін. Сондықтан ферментпен гидролиз процесін қатаң бақылау және уақытында тоқтату қажет.

ПАЙДАЛАНЫЛҒАН ӘДЕБИЕТТЕР
ТІЗІМІ

1. Антипова Л.В., Горбунков М.В. Протепсин - новый ферментный препарат отечественного производства для обработки мясного и молочного сырья // В сборнике: «Перспективные ферментные препараты и биотехнологические процессы в технологиях продуктов питания и кормов». ВНИИПБТ; Под редакцией В.А. Полякова, Л.В. Римаревой. - 2016. - С. 7-12.
2. Кадирбай Ж., Түсюпова Б., Абжанова Ш. Использование ферментных препаратов для мясных продуктов. // ВЕСТНИК КазНУТУ, 2018. - №2 (126). - С. 119-123.
3. Morton JD, Lee HYY, Pearson RG, Bickerstaffe R. The physical and biochemical effects of pre-rigor high pressure processing of beef. *Meat Sci.* 2018;143:129–136. doi: 10.1016/j.meatsci.2018.04.021.
4. Lian T, Wang L, Liu Y. A new insight into the role of calpains in post-mortem meat tenderization in domestic animals: A review. *Asian-Australas J Anim Sci.* 2013;26:443–454. doi: 10.5713/ajas.2012.12365.
5. Kaur L, Hui SX, Boland M. Changes in cathepsin activity during low-temperature storage and sous vide processing of beef brisket. *Food Sci Anim Resour.* 2020;40:415–425. doi: 10.5851/kosfa.2020.e21.
6. Lovedeep Kaur, Seah Xin Hui, James D. Morton, Ramandeep Kaur, Feng Ming Chian, Mike Boland. Endogenous Proteolytic Systems and Meat Tenderness: Influence of Post-Mortem Storage and Processing. *Food Sci Anim Resour.* 2021 Jul; 41(4): 589-607. Published online 2021 Jul 1. doi: 10.5851/kosfa.2021.e27.
7. Wang A, Kang D, Zhang W, Zhang C, Zou Y, Zhou G. Changes in calpain activity, protein degradation and microstructure of beef *M. semitendinosus* by the application of ultrasound. *Food Chem.* 2018;245:724-730. doi: 10.1016/j.foodchem.2017.12.003.
8. Wang D, Dong H, Zhang M, Liu F, Bian H, Zhu Y, Xu W. Changes in actomyosin dissociation and endogenous enzyme activities during heating and their relationship with duck meat tenderness. *Food Chem.* 2013;141:675-679. doi: 10.1016/j.foodchem.2013.04.034.
9. Hopkins DL, Thompson JM. Inhibition of protease activity. Part 1. The effect on tenderness and indicators of proteolysis in ovine muscle. *Meat Sci.* 2001;59:175–185. doi: 10.1016/S0309-1740(01)00068-7.
10. Veiseth E, Shackelford SD, Wheeler TL, Koohmaraie M. Effect of postmortem storage on μ -calpain and m-calpain in ovine skeletal muscle. *J Anim Sci.* 2001;79:1502-1508. doi: 10.2527/2001.7961502x.
11. Uttaro B, Zawadzki S, McLeod B. Efficacy of multi-stage sous-vide cooking on tenderness of

low value beef muscles. *Meat Sci.* 2019;149:40–46. doi: 10.1016/j.meatsci.2018.11.008.

12. Szymczak M. Distribution of cathepsin D activity between lysosomes and a soluble fraction of marinating brine. *J Food Sci.* 2016;81:E1966–E1970. doi: 10.1111/1750-3841.13375.

13. Suwandy V, Carne A, van de Ven R, Bekhit AEDA, Hopkins DL. Effect of pulsed electric field on the proteolysis of cold boned beef *M. longissimus lumborum* and *M. semimembranosus*. *Meat Sci.* 2015b;100:222–226. doi: 10.1016/j.meatsci.2014.10.011.

14. Starkey CP, Geesink GH, Collins D, Oddy VH, Hopkins DL. Do sarcomere length, collagen content, pH, intramuscular fat and desmin degradation explain variation in the tenderness of three ovine muscles? *Meat Sci.* 2016;113:51–58. doi: 10.1016/j.meatsci.2015.11.013.

15. Simonin H, Durantou F, de Lamballerie M. New insights into the high-pressure processing of meat and meat products. *Compr Rev Food Sci Food Saf.* 2012;11:285–306. doi: 10.1111/j.1541-4337.2012.00184.x.

16. Sikes AL, Warner R. Application of high hydrostatic pressure for meat tenderization. In: Knoerzer K, Juliano P, Smithers GW, editors. *Innovative food processing technologies: Extraction, separation, component modification and process intensification*. San Diego, CA: Elsevier; 2016. pp. 259–290.

17. Ohmori T, Shigehisa T, Taji S, Hayashi R. Effect of high pressure on the protease activities in meat. *Agric Biol Chem.* 1991;55:357–361. doi: 10.1271/abb1961.55.357.

18. Антипова Л.В., Глотова И.А., Рогов И.А. Методы исследования мяса и мясных продуктов. - М.: Колос, 2001. - 576 с.

REFERENCES

1. Антипова Л.В., Горбунков М.В. Протепсин - новый ферментный препарат отечественного производства для обработки мясного и молочного сырья // В сборнике: «Перспективные ферментные препараты и биотехнологические процессы в технологиях продуктов питания и кормов». ВНИИПБТ; Под редакцией В.А. Полякова, Л.В. Римаревой. - 2016. - С. 7-12.
2. Кадирбай Ж., Түсюпова Б., Абжанова Ш. Использование ферментных препаратов для мясных продуктов. // ВЕСТНИК КазНУТУ, 2018. - №2 (126). - С. 119-123.
3. Morton JD, Lee HYY, Pearson RG, Bickerstaffe R. The physical and biochemical effects of pre-rigor high pressure processing of beef. *Meat Sci.* 2018;143:129–136. doi: 10.1016/j.meatsci.2018.04.021.
4. Lian T, Wang L, Liu Y. A new insight into the role of calpains in post-mortem meat tenderization in domestic animals: A review. *Asian-Australas J Anim Sci.* 2013;26:443–454. doi: 10.5713/ajas.2012.12365.

5. Kaur L, Hui SX, Boland M. Changes in cathepsin activity during low-temperature storage and sous vide processing of beef brisket. *Food Sci Anim Resour.* 2020;40:415–425. doi: 10.5851/kosfa.2020.e21.
6. Lovedeep Kaur, Seah Xin Hui, James D. Morton, Ramandeep Kaur, Feng Ming Chian, Mike Boland. Endogenous Proteolytic Systems and Meat Tenderness: Influence of Post-Mortem Storage and Processing. *Food Sci Anim Resour.* 2021 Jul; 41(4): 589-607. Published online 2021 Jul 1. doi: 10.5851/kosfa.2021.e27.
7. Wang A, Kang D, Zhang W, Zhang C, Zou Y, Zhou G. Changes in calpain activity, protein degradation and microstructure of beef *M. semitendinosus* by the application of ultrasound. *Food Chem.* 2018;245:724-730. doi: 10.1016/j.foodchem.2017.12.003.
8. Wang D, Dong H, Zhang M, Liu F, Bian H, Zhu Y, Xu W. Changes in actomyosin dissociation and endogenous enzyme activities during heating and their relationship with duck meat tenderness. *Food Chem.* 2013;141:675-679. doi: 10.1016/j.foodchem.2013.04.034.
9. Hopkins DL, Thompson JM. Inhibition of protease activity. Part 1. The effect on tenderness and indicators of proteolysis in ovine muscle. *Meat Sci.* 2001;59:175–185. doi: 10.1016/S0309-1740(01)00068-7.
10. Veiseth E, Shackelford SD, Wheeler TL, Koohmaraie M. Effect of postmortem storage on μ -calpain and m-calpain in ovine skeletal muscle. *J Anim Sci.* 2001;79:1502-1508. doi: 10.2527/2001.7961502x.
11. Uttaro B, Zawadski S, McLeod B. Efficacy of multi-stage sous-vide cooking on tenderness of low value beef muscles. *Meat Sci.* 2019;149:40–46. doi: 10.1016/j.meatsci.2018.11.008.
12. Szymczak M. Distribution of cathepsin D activity between lysosomes and a soluble fraction of marinating brine. *J Food Sci.* 2016;81:E1966–E1970. doi: 10.1111/1750-3841.13375.
13. Suwandy V, Carne A, van de Ven R, Bekhit AEDA, Hopkins DL. Effect of pulsed electric field on the proteolysis of cold boned beef *M. longissimus lumborum* and *M. semimembranosus*. *Meat Sci.* 2015b;100:222–226. doi: 10.1016/j.meatsci.2014.10.011.
14. Starkey CP, Geesink GH, Collins D, Oddy VH, Hopkins DL. Do sarcomere length, collagen content, pH, intramuscular fat and desmin degradation explain variation in the tenderness of three ovine muscles? *Meat Sci.* 2016;113:51–58. doi: 10.1016/j.meatsci.2015.11.013.
15. Simonin H, Duranton F, de Lamballerie M. New insights into the high-pressure processing of meat and meat products. *Compr Rev Food Sci Food Saf.* 2012;11:285–306. doi: 10.1111/j.1541-4337.2012.00184.x.
16. Sikes AL, Warner R. Application of high hydrostatic pressure for meat tenderization. In: Knoerzer K, Juliano P, Smithers GW, editors. *Innovative food processing technologies: Extraction, separation, component modification and process intensification*. San Diego, CA: Elsevier; 2016. pp. 259–290.
17. Ohmori T, Shigehisa T, Taji S, Hayashi R. Effect of high pressure on the protease activities in meat. *Agric Biol Chem.* 1991;55:357–361. doi: 10.1271/abb1961.55.357.
18. Антипова Л.В., Глотова И.А., Рогов И.А. Методы исследования мяса и мясных продуктов. - М. Колос, 2001. - 576 с.