

ТЕХНОЛОГИЯ ПЕРЕРАБОТКИ ГИДРОБИОНТОВ

УДК 664.951.001.5
ББК 36.94

А. С. Виннов, Н. В. Долганова

КИНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ПРОЦЕССА ФЕРМЕНТАТИВНОГО ГИДРОЛИЗА БЕЛКОВ МЫШЕЧНОЙ ТКАНИ РЫБЫ

A. S. Vinnov, N. V. Dolganova

KINETIC ANALYSIS OF THE ENZYMATIC HYDROLYSIS OF FISH MUSCLE TISSUE PROTEIN

Цель исследования – экспериментальная оценка возможности использования методов кинетического анализа ферментативного гидролиза белков сложной многокомпонентной фермент-субстратной системы для определения направленности процесса. Приведены результаты экспериментально-теоретических исследований кинетики процесса для фермент-субстратных систем с содержанием ферментного препарата протосубтилин Г3Х в 0,01 и 0,05 мг/г. Анализ полученных экспериментальных кинетических кривых позволяет утверждать, что для обеих концентраций фермента в рассматриваемом временном интервале гидролиз носит характер затухающего процесса по накоплению в гидролизате азота водорастворимых термоустойчивых соединений. Причиной затухания может быть исчерпание специфического субстрата или конкурентное замещение высокомолекулярных белков-субстратов продуктами реакции. Для определения причины затухания экспериментальные кривые, представленные в виде интегральной формы уравнения Михаэлиса – Ментен, были преобразованы в координатах Вокера – Шмидта. Из преобразованной интегральной формы рассчитаны значения эффективных констант ферментализации. Для фермент-субстратных систем с низким содержанием ферментного препарата эффективные константы ферментализации имеют отрицательные значения, что говорит о наличии конкуренции за активные центры фермента между высокомолекулярными белками-субстратами и продуктами их гидролиза. Для фермент-субстратных систем с высоким содержанием ферментного препарата такой закономерности не выявлено. Установлена возможность применения метода кинетического анализа для предварительной оценки характера и глубины ферментативного гидролиза белков. Выявленные закономерности дают основание утверждать, что для получения гидролизата прогнозируемого состава процесс необходимо проводить при пониженной дозе ферментного препарата. Азотистые вещества данного гидролизата будут представлены в основном тяжелыми пептидами.

Ключевые слова: гидролизат, кинетический анализ, ферментализация, константа Михаэлиса, конкурентное ингибирование, протосубтилин.

The aim of the study is to evaluate the feasibility of the use of experimental methods of kinetic analysis of protein enzymatic hydrolysis of the complex multi-component enzyme-substrate system for the process orientation determining. The results of the experimental-theoretical studies of the kinetic process for the enzyme-substrate systems containing enzyme Protosubtilin G3X of 0.01 and 0.05 mg/g are given. The analysis of the experimental kinetic curves suggests that for both enzyme concentrations in the considered time interval hydrolysis has the character of the fading process of the retention of nitrogen of watersoluble thermally stable compounds in the hydrolyzate. The damping cause can be due to specific substrate exhausting or competitive displacement of macromolecular proteins – substrate by reaction products. To determine the cause of the decay the experimental curves, presented in the integrated Michaelis – Menten equation, were converted into Walker – Schmidt coordinates. From the transformed integral form, the values of enzymatic hydrolysis effective constants were calculated. For the enzyme-substrate systems with a low enzyme content the effective constants are negative that indicates the competition for the active sites of the enzyme between

the macromolecular protein substrates and the products of their hydrolysis. For the enzyme-substrate systems with a high enzyme content such regularities are not revealed. The possibility of kinetic analysis method application for the preliminary assessment of the character and depth of the protein enzymatic hydrolysis is stated. The revealed regularities give grounds to assert that for obtaining the hydrolyzate of the forecasting content the process should be carried out at a lower dose of the enzyme. Nitrogenous substances of the hydrolyzate will be generally presented with heavy peptides.

Key words: hydrolyzate, kinetic analysis, enzymatic hydrolysis, Michaelis constant, competitive inhibition, protosubtilin.

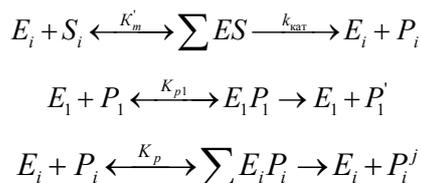
Введение

Современные направления развития рыбообрабатывающей промышленности предусматривают разработку комплексных, малоотходных технологий переработки гидробионтов. Одним из наиболее перспективных методов реализации такого подхода является применение ферментативных технологий для получения продуктов различного состава и назначения. Широко распространенные варианты ферментированных рыбных продуктов – это рыбные гидролизаты, которые применяются для корректировки аминокислотных формул многих видов пищевых продуктов, используются в качестве компонентов рыбных соусов, спортивного питания, вкусоароматических добавок, биоактивных препаратов, кормов, удобрений и др. [1, 2].

Общей проблемой применения пищевых и кормовых ферментативных гидролизатов является горький привкус продукта вследствие образования гидрофобных пептидов из 4–10 аминокислотных остатков, в то время как наличие в гидролизате более крупных и, наоборот, более мелких пептидов позволяет избежать неприятного привкуса и увеличивает биологическую ценность продукта [3, 4].

Состав образующихся при гидролизе фрагментов белковых молекул зависит не только от вида исходного сырья и примененного ферментного препарата, но и условий ферментации, при этом теоретически обоснованного подхода к оценке этих условий до настоящего времени не выработано.

В технологии ферментативных белковых гидролизатов, при формировании фермент-субстратных систем, всегда образуется сложная смесь, состоящая из раствора ферментного препарата, растворенных, эмульгированных и диспергированных компонентов тканей сырья различной природы. При этом в промышленных фермент-субстратных системах, часто вместе с ферментацией, протекают автолитические процессы. Очевидно, что при ферментативном гидролизе подобных поликомпонентных субстратных систем образуются многочисленные продукты, и некоторые из них способны к конкурентному ингибированию индивидуальных протеаз ферментного препарата [5]. В этом случае образовавшиеся продукты реакции – ингибиторы – будут конкурировать с исходным белковым субстратом за активный центр фермента. Кинетическая схема такого ферментативного процесса будет иметь следующий вид [6]:



Если сродство каких-либо из образовавшихся в результате гидролиза продуктов реакции к имеющимся в системе индивидуальным ферментам выше, чем у белков исходного субстрата, то процесс может приобрести циклическую форму. В этом случае протекающая на первом этапе ферментативная деградация высокомолекулярных белков будет тормозиться, а скорость гидролиза конкурентных продуктов реакции будет возрастать до их исчерпания, затем вновь активизируется гидролиз белков исходного субстрата и т. д. Из приведенного предположения следует, что если сродство белков исходного субстрата к большинству индивидуальных ферментов выше, чем у образовавшихся продуктов, то азотистые вещества такого гидролизата на длительном временном отрезке ферментации будут представлены в основном крупными белковыми фрагментами.

Для описания кинетики ферментативных процессов для сложных фермент-субстратных систем принято применять интегральную форму уравнения Михаэлиса – Ментен, которая имеет следующий вид [7, 8]:

$$\sum [P] = V'_m \tau - K'_m \ln \frac{\sum [S]_0}{\sum [S]_0 - \sum [P]}, \quad (1)$$

где $\sum[P]$ – суммарное количество продуктов реакции; τ – продолжительность процесса; K'_m – кажущаяся константа Михаэлиса; V'_m – кажущаяся максимальная скорость процесса; $\sum[S]_0$ – начальное суммарное количество белков-субстратов.

Кажущаяся константа Михаэлиса и кажущаяся максимальная скорость процесса аналогичны классическим показателям ферментативной кинетики, но учитывают совокупность ферментативных процессов при сложном многокомпонентном составе субстрата в растворенном и взвешенном состоянии.

Чем меньше значение K'_m , тем выше алгебраически суммарное сродство основного субстрата к имеющимся в системе ферментам.

Для дальнейшего анализа интегральную форму уравнения Михаэлиса – Ментен (1) следует привести к линейному виду.

Наиболее часто для этого применяются координаты Вокера – Шмидта [7, 9, 10], в которых уравнение (1) приобретает вид

$$\frac{\sum P}{\tau} = V'_m - K'_m \frac{1}{\tau} \ln \frac{\sum[S]_0}{\sum[S]_0 - \sum[P]} \quad (2)$$

Полученная в результате преобразования прямая имеет тангенс угла наклона равный K'_m и отсекает на оси ординат отрезок равный V'_m .

Интерпретация [7] уравнения (2) с учетом возможного конкурентного ингибирования ферментов продуктами реакции приводит к выражению

$$\frac{\sum P}{\tau} = \frac{V'_m}{1 - \frac{K'_m}{K_i}} - \frac{K'_m \left(1 + \frac{\sum[S]_0}{K_p}\right)}{\tau \left(1 - \frac{K'_m}{K_i}\right)} \ln \frac{\sum[S]_0}{\sum[S]_0 - \sum[P]}$$

Введенная в уравнение константа ингибирования K_i характеризует процесс конкурентного ингибирования фермента продуктами реакции. В этом случае возникает новая комплексная кинетическая константа:

$$K_{\text{эфф}} = K'_m \left(1 + \frac{\sum[S]_0}{K_i}\right) / \left(1 - \frac{K'_m}{K_i}\right) \quad (3)$$

Эту величину принято называть эффективной константой ферментативного процесса. Она аналогична по физическому смыслу видимой константе Михаэлиса, но учитывает не только особенности процесса в многокомпонентной фермент-субстратной системе, но и возможный процесс обратимого конкурентного ингибирования.

В этом случае свободный член уравнения Михаэлиса – Ментен в координатах Вокера – Шмидта приобретает смысл максимальной эффективной скорости процесса.

$$V_{\text{эфф}} = V'_m / \left(1 - \frac{K'_m}{K_i}\right)$$

Если предположить, что $K'_m > K_i$; т. е. ситуацию, когда конкурентный ингибирующий продукт реакции имеет значительно большее сродство к ферменту по сравнению с исходным субстратом, то значения эффективной константы ферментативного процесса, определенные из уравнений (3), будут иметь отрицательные значения. Эта ситуация имеет физический смысл практически полного конкурентного замещения в катализе исходного субстрата продуктами реакции.

Сделанные теоретические предположения представляются реальным при продолжительном процессе ферментативного гидролиза, а приведенный подход после экспериментального подтверждения может быть использован для прогнозирования протекания процесса ферментации и состава получаемого гидролизата.

Таким образом, цель исследований состояла в экспериментальной оценке возможности использования интегральной формы уравнения Михаэлиса – Ментен с линеаризацией Вокера – Шмидта для анализа направленности процесса ферментативного гидролиза белков сложной многокомпонентной фермент-субстратной системы.

Для достижения поставленной цели в работе рассматривались следующие задачи:

- сформировать модельные фермент-субстратные системы с различным значением концентрации белковых веществ $\sum[S]_0$;
- получить экспериментальные кинетические кривые ферментативного гидролиза белков принятых модельных систем;
- на основе полученных экспериментальных данных рассчитать и оценить значения эффективной константы ферментативного процесса $K_{эф}$, описывающие процесс ферментации белков рассматриваемых фермент-субстратных систем.

Материалы и методы исследования

В исследованиях в качестве фермент-субстратных систем были использованы водные диспергаты измельченного филе азовского бычка (*Gobius melanostomus*) с диапазоном концентрации белков 40–60 мг/г с добавлением ферментного препарата микробиологического происхождения протосубтилин ГЗХ при его концентрации в системе 0,01 и 0,05 мг/г. Гидролиз проводили в течение 225 минут при температуре 50 °С, постоянном перемешивании и естественных значениях pH на фоне характерного для данного вида сырья автолитического процесса.

Протекание процесса ферментации оценивали по накоплению азота соединений, остающихся в гидролизате после его кипячения и фильтрации (термоустойчивые водорастворимые азотистые вещества (ВА)) и азота соединений после осаждения белков трихлоруксусной кислотой и фильтрации (небелковые азотистые вещества (НБА)). Количество ВА и НБА определяли по методу Кьельдаля (анализатор VELP Scientifica).

Результаты исследований и их обсуждение

Полученные экспериментальные зависимости накопления азота термоустойчивых водорастворимых соединений в зависимости от продолжительности ферментации при концентрации ферментного препарата 0,01 мг/г (рис. 1) на начальном этапе процесса (примерно в течение первых 50–60 минут ферментации) имеют линейный характер. Они аналогичны друг другу и характеризуются на этом этапе практически одинаковой скоростью процесса. Дальнейшее продолжение гидролиза приводит к возникновению значительных различий в характере кривых. Зависимости, полученные для высоких концентраций субстрата (60–50,25 мг/г) имеют монотонный характер без точек перегиба. Экспериментальная кривая, полученная для субстрата с концентрацией белковых веществ 40,5 мг/г, имеет статистически достоверную точку перегиба при продолжительности процесса на уровне 200–210 минут. Более выраженная точка перегиба характерна для кривой, полученной в результате гидролиза субстрата с концентрацией белков 30,75 мг/г. Она наблюдается при продолжительности процесса около 125 минут, разделяя экспериментальную кривую на 2 похожих по своему характеру участка.

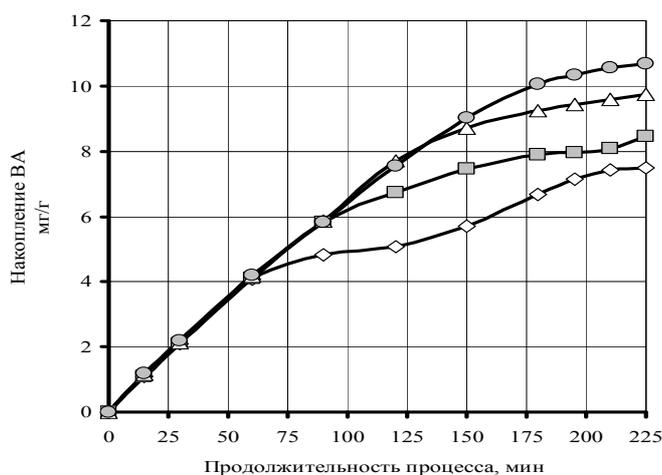


Рис. 1. Динамика накопления азота водорастворимых веществ в процессе гидролиза белков мышечной ткани рыбы ферментным препаратом протосубтилин ГЗХ с концентрацией 0,01 мг/г. Концентрация субстрата, мг/г: \diamond 30,75; \square 40,50; \triangle 50,25; \circ 60,00

Для корректной интерпретации происходящих процессов аппроксимирующие экспериментальные кинетические зависимости (табл. 1) были подвергнуты дифференциальному анализу.

Полученные значения второй производной уравнений, аппроксимирующих экспериментальные кинетические зависимости, позволяют утверждать, что в рассматриваемом временном интервале ферментолит имеет характер затухающего процесса по принятому индикаторному показателю ВА. Теоретически причиной затухания прироста накопления ВА может быть как исчерпание специфичного субстрата, так и конкурентное замещение высокомолекулярных белков продуктами реакции.

Для выяснения причины затухающего поведения процесса необходимо линейаризовать экспериментальные зависимости в координатах Вокера – Шмидта на криволинейных участках экспериментальных зависимостей (рис. 1). Результаты линейаризации, с последующей линейной аппроксимацией, представлены в табл. 2.

Таблица 1

Результаты исследования уравнений, аппроксимирующих экспериментальные зависимости накопления азота водорастворимых веществ в процессе гидролиза мышечной ткани рыбы ферментным препаратом протосубтилин ГЗХ с концентрацией 0,01 мг/г

Начальная концентрация белковых веществ в субстрате, мг/г		Полином, аппроксимирующий экспериментальные кинетические кривые $\sum P f \tau$	Первая производная $\sum P'$	Вторая производная $\sum P''$
60,00		$-0,0001\tau^2 + 0,08\tau$	$-0,0002\tau + 0,08$	$-0,0002$
54,27		$-0,0002\tau^2 + 0,0831\tau$	$-0,0004\tau + 0,0831$	$-0,0004$
43,74		$-0,0002\tau^2 + 0,0788\tau$	$-0,0004\tau + 0,0788$	$-0,0004$
30,75	1-й участок (0–125 мин)	$-0,0004\tau^2 + 0,087\tau$	$-0,0008\tau + 0,087$	$-0,0008$
	2-й участок (125–225 мин)	$-4 \cdot 10^{-5}\tau^2 + 0,087\tau$	$-8 \cdot 10^{-5}\tau + 0,0885$	$-8 \cdot 10^{-5}$

Таблица 2

Уравнения, аппроксимирующие линейаризованные в координатах Вокера – Шмидта экспериментальные кривые накопления азота водорастворимых веществ в процессе гидролиза мышечной ткани рыбы ферментным препаратом протосубтилин ГЗХ с концентрацией 0,01 мг/г

Концентрация белковых веществ в субстрате, мг/г		Аппроксимирующее уравнение функциональной зависимости $\frac{\sum P}{\tau} f \left(\frac{1}{\tau} \ln \frac{\sum [S]_0}{\sum [S]_0 - \sum [P]} \right)$	$K'_{эфф} = \frac{K'_m \left(1 + \frac{\sum [S]_0}{K_i} \right)}{1 - \frac{K'_m}{K_i}}$	$V_{эфф} = \frac{V'_m}{1 - \frac{K'_m}{K_i}}$
60,00		$\frac{-3,1388}{\tau} \ln \frac{\sum [S]_0}{\sum [S]_0 - \sum [P]} + 0,3547$	$-3,1388$	$0,3547$
54,27		$\frac{-1,6753}{\tau} \ln \frac{\sum [S]_0}{\sum [S]_0 - \sum [P]} + 0,2886$	$-1,6753$	$0,2886$
43,74		$\frac{-3,1862}{\tau} \ln \frac{\sum [S]_0}{\sum [S]_0 - \sum [P]} + 0,3622$	$-3,1862$	$0,3622$
30,75	1-й участок (0–125 мин)	$\frac{-1,5306}{\tau} \ln \frac{\sum [S]_0}{\sum [S]_0 - \sum [P]} + 0,2486$	$-1,5306$	$0,2486$
	2-й участок (125 – 225 мин)	$\frac{-40,614}{\tau} \ln \frac{\sum [S]_0}{\sum [S]_0 - \sum [P]} + 1,748$	$-40,614$	$1,748$

Полученные отрицательные расчетно-экспериментальные значения эффективной константы ферментативного процесса позволяют определить ферментолиз субстрата на основе белков филе азовского бычка по индикаторному показателю ВА как затухающий процесс, протекающий в условиях активного конкурентного ингибирования индивидуальных ферментов препарата протосубтилин ГЗХ продуктами реакции.

Сделанный вывод подтверждается экспериментальными данными динамики накопления НБА (рис. 2).

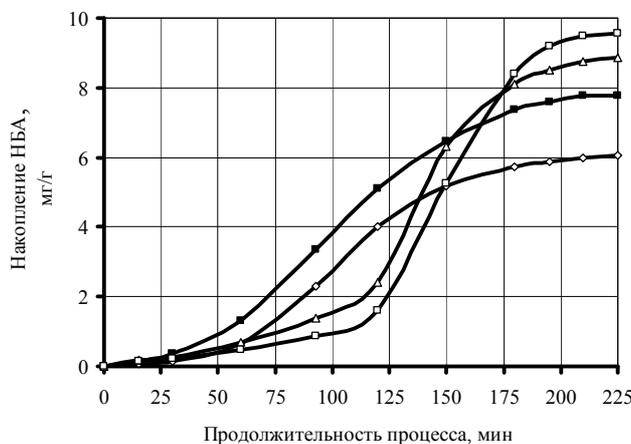


Рис. 2. Динамика накопления небелкового азота в процессе гидролиза белков мышечной ткани рыбы ферментным препаратом протосубтилин ГЗХ с концентрацией 0,01 мг/г. Концентрация субстрата, мг/г: \diamond 30,75; \square 40,50; \triangle 50,25; \circ 60,00

Из рис. 2 видно, что на первом этапе ферментативного гидролиза количество НБА возрастает незначительно. В гидролизате интенсивно накапливаются термоустойчивые ВА.

Интенсификация накопления НБА совпадает с периодом практически полной остановки накопления ВА в гидролизате на втором этапе процесса, т. е. гидролиз высокомолекулярных белков практически полностью конкурентно заменяется на ферментативную деградацию их крупных фрагментов.

Экспериментальные зависимости, полученные при исследовании процесса накопления термоустойчивых ВА в фермент-субстратных системах с концентрацией ферментного препарата 0,05 мг/г, представлены на рис. 3. В данном случае процесс ферментолиза даже на начальных этапах протекает с различной скоростью, но в целом также имеет затухающий характер (табл. 3).

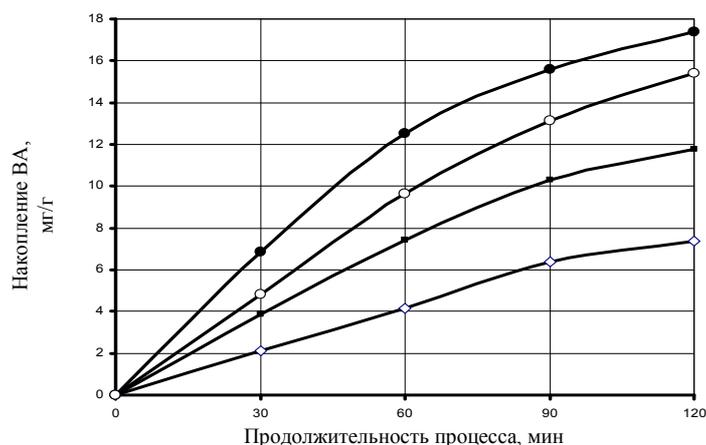


Рис. 3. Динамика накопления азота водорастворимых веществ в процессе гидролиза белков мышечной ткани рыбы ферментным препаратом протосубтилин ГЗХ с концентрацией 0,05 мг/г. Концентрация субстрата, мг/г: \diamond 30,75; \square 40,50; \triangle 50,25; \circ 60,00.

Таблица 3

Результаты исследования уравнений, аппроксимирующих экспериментальные зависимости накопления азота водорастворимых веществ в процессе гидролиза мышечной ткани рыбы ферментным препаратом протосубтилин ГЗХ с концентрацией 0,05 мг/г

Начальная концентрация белковых веществ в субстрате, мг/г	Полином, аппроксимирующий экспериментальные кинетические кривые $\sum P f \tau$	Первая производная $\sum P'$	Вторая производная $\sum P''$
60,00	$-0,001\tau^2 + 0,2643\tau$	$-0,002\tau + 0,2643$	$-0,002$
54,27	$-0,0005\tau^2 + 0,1871\tau$	$-0,001\tau + 0,1871$	$-0,001$
43,74	$-0,0004\tau^2 + 0,149\tau$	$-0,0008\tau + 0,149$	$-0,0008$
30,75	$-0,0002\tau^2 + 0,0809\tau$	$-0,0004\tau + 0,0809$	$-0,0004$

Линеаризация экспериментальных зависимостей накопления ВА, полученных в результате применения ферментного препарата с концентрацией 0,05 мг/г в координатах Вокера – Шмидта на криволинейных участках экспериментальных зависимостей (рис. 3), с последующей линейной аппроксимацией, представлена в табл. 4.

Таблица 4

Уравнения, аппроксимирующие линеаризованные в координатах Вокера – Шмидта экспериментальные кривые накопления азота водорастворимых веществ в процессе гидролиза мышечной ткани рыбы ферментным препаратом протосубтилин ГЗХ с концентрацией 0,05 мг/г

Концентрация белковых веществ в субстрате, мг/г	Аппроксимирующее уравнение функциональной зависимости $\frac{\sum P}{\tau} f \left(\frac{1}{\tau} \ln \frac{\sum [S]_0}{\sum [S]_0 - \sum [P]} \right)$	$K_{эфф} = \frac{K'_m \left(1 + \frac{\sum [S]_0}{K_i} \right)}{1 - \frac{K'_m}{K_i}}$	$V_{эфф} = \frac{V'_m}{1 - \frac{K'_m}{K_i}}$
60,00	$\frac{0,0146}{\tau} \ln \frac{\sum [S]_0}{\sum [S]_0 - \sum [P]} + 0,0008$	0,0146	0,0008
54,27	$\frac{0,018}{\tau} \ln \frac{\sum [S]_0}{\sum [S]_0 - \sum [P]} + 0,0007$	0,018	0,0007
43,74	$\frac{0,0243}{\tau} \ln \frac{\sum [S]_0}{\sum [S]_0 - \sum [P]} + 0,005$	0,0243	0,005
30,75	$\frac{0,0318}{\tau} \ln \frac{\sum [S]_0}{\sum [S]_0 - \sum [P]} + 0,0003$	0,0318	0,0003

Полученные положительные значения эффективной константы ферментативного гидролиза позволяют утверждать, что процесс в рассмотренном временном интервале не сопровождается ингибированием индивидуальных ферментов промежуточными продуктами гидролиза по конкурентному механизму. Вероятно, выявленный в данном случае характер протекания процесса связан с некоторым «избытком» ферментного препарата. Это предположение может быть подтверждено характером кривых накопления НБА в гидролизате (рис. 4).

Монотонный характер зависимостей накопления НБА в гидролизате позволяет утверждать, что присутствие в системе повышенного количества ферментного препарата дает возможность избежать цикличности гидролиза, т. е. фермента достаточно много для одновременного катализа гидролиза как высокомолекулярных исходных белков-субстратов, так и промежуточных пептидов.

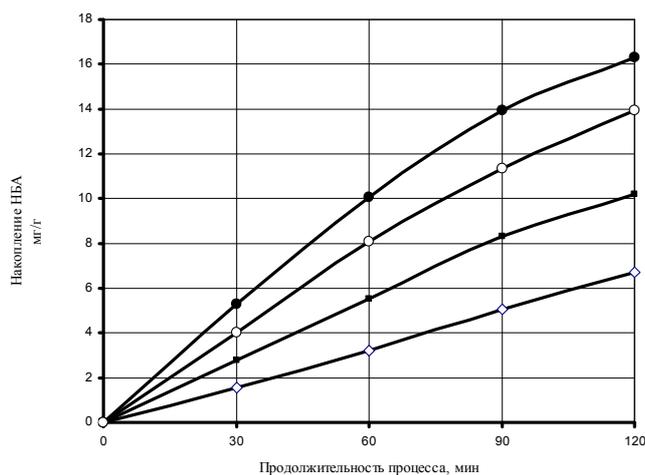


Рис. 4. Динамика накопления азота водорастворимых веществ в процессе гидролиза белков мышечной ткани рыбы ферментным препаратом протосубтилин ГЗХ с концентрацией 0,05 мг/г. Концентрация субстрата, мг/г: \diamond 30,75; \square 40,50; \triangle 50,25; \circ 60,00

Заключение

1. В результате экспериментально-теоретических исследований установлена возможность применения метода кинетического анализа для предварительной оценки характера и глубины ферментативного гидролиза белков.

2. Установлено, что при малых количествах введенного в фермент-субстратную систему ферментного препарата наблюдается конкуренция различных видов субстрата за фермент. Этот процесс приводит к поэтапному накоплению продуктов различной молекулярной массы в гидролизате.

3. Полученные результаты дают основание утверждать, что при малых количествах введенного в фермент-субстратную систему ферментного препарата азотистые вещества гидролизата из мышечной ткани азовского бычка на первом этапе процесса будут представлены в основном высокомолекулярными пептидами. Дальнейшее продолжение ферментализации будет сопровождаться снижением их количества и накоплением низкомолекулярного НБА.

4. Выявленные закономерности дают основание утверждать, что для получения гидролизата прогнозируемого состава процесс необходимо проводить при пониженной дозе ферментного препарата.

5. С целью повышения достоверности прогноза глубины ферментативного гидролиза необходимы дополнительные исследования по определению значения константы конкурентного ингибирования ферментов продуктами реакции при различных дозах введенного в систему ферментного препарата.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Almas K. A. Utilization of marinebiomass for production of microbial growth media and biocheemicals / K. A. Almas // *Advances in Fisheries Technology and Biotechnology for Increased Profitability* – Lancaster Technomic Publication, Comp., 1990.
2. Strom T. Marine biotechnology in Norway / T. Strom, J. Raa // *J. Mar. Biotechnology*. 1993. 1. P. 3–7.
3. Seafood flavourants produced by enzymatic hydrolysis // *Advances in Fisheries Technology and Biotechnology for Increased Profitability* – Lancaster Technomic Publication, Comp., 1990.
4. Saisthip Traditional fermented fish: fish sause production // *Fisheries Processing: Biotechnological Applications* – London, Chapman & Hall, 1994.
5. Румянцева Г. Н. Научные и практические аспекты использования ферментативного катализа в пищевой промышленности / Г. Н. Румянцева, Н. И. Дунченко: моногр. М.: МГУПБ, 2007. 101 с.
6. Markovic I. Use of the Foster-Niemann Equation in study of the Enzymic Processes / I. Markovic, V. Topolovec, B. Markovic-Devic, V. Maric // *Food Technology and Biotechnology*. 2001. 39.
7. Корниш-Бодуэн Э. Основы ферментативной кинетики / Э. Корниш-Бодуэн. М.: Мир, 1979. 272 с.
8. Байрамов В. М. Основы химической кинетики и катализа / В. М. Байрамов. М.: Академия, 2003. 256 с.
9. Malenica M. Diploma work, Faculty of Food Technology and Biotechnology, University of Zagreb, Zagreb, 1997.

10. Walker J. M. Enzyme Engineering // Molecular Biology and Biotechnology. The Royal Society of Chemistry, Cambridge, 1993.

REFERENCES

1. Almas K. A. *Utilization of marine biomass for production of microbial growth media and biocheemicals*. Advances in Fisheries Technology and Biotechnology for Increased Profitability – Lancaster Technomic Publication, Comp., 1990.
2. Strom T., Raa J. Marine biotechnology in Norway. *J. Mar. Biotechnology*, 1993, 1, pp. 3–7.
3. *Seafood flavourants produced by enzymatic hydrolysis*. Advances in Fisheries Technology and Biotechnology for Increased Profitability – Lancaster Technomic Publication, Comp., 1990.
4. *Saisthip Traditional fermented fish: fish sause production*. Fisheries Processing: Biotechnological Applications – London, Chapman & Hall, 1994.
5. Rumiantseva G. N., Dunchenko N. I. *Nauchnye i prakticheskie aspekty ispol'zovaniia fermentativnogo kataliza v pishchevoi promyshlennosti* [Theoretical and practical aspects of use of enzymatic catalyze in food industry]. Moscow, MGUPB, 2007. 101 p.
6. Markovic I., Topolovec V., Markovic-Devic B., Maric V. Use of the Foster-Niemann Equation in study of the Enzymic Processes. *Food Technology and Biotechnology*, 2001, 39.
7. Kornish-Boduen E. *Osnovy fermentativnoi kinetiki* [The basis of enzymatic kinetics]. Moscow, Mir Publ., 1979. 272 p.
8. Bairamov V. M. *Osnovy khimicheskoi kinetiki i kataliza* [The basis of chemical kinetics and catalyze]. Moscow, Izdatel'skii tsentr «Akademiia», 2003. 256 p.
9. Malenica M. *Diploma work*, Faculty of Food Technology and Biotechnology, University of Zagreb, Zagreb, 1997.
10. Walker J. M. *Enzyme Engineering. Molecular Biology and Biotechnology*. The Royal Society of Chemistry, Cambridge, 1993.

Статья поступила в редакцию 29.04.2013

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

Виннов Алексей Сергеевич – Национальный университет биоресурсов и природопользования Украины, Киев; канд. техн. наук, доцент; доцент кафедры «Технология мясных, рыбных и морепродуктов»; Aleks2174@yandex.ua.

Vinnov Alexey Sergeevich – National University of Bioresources and Nature Management of Ukraine, Kiev; Candidate of Technical Sciences, Assistant Professor; Assistant Professor of the Department "Technology of Meat, Fish and Seafood"; Aleks2174@yandex.ua.

Долганова Наталья Вадимовна – Астраханский государственный технический университет; д-р техн. наук; профессор; зав. кафедрой «Товароведение, технология и экспертиза товаров»; n.dolganova@astu.org.

Dolganova Natalia Vadimovna – Astrakhan State Technical University; Doctor of Technical Sciences, Professor; Head of the Department "Commodity Research, Technology and Expert Examination of Goods"; kivragtu@mail.ru.