

EDN: ZKHFQR

УДК 664.957.8

Effect of Stirring and Chemical Surfactants on the Emulsification of Fish Fat Waste as a Potential Biotechnological Carbon Substrate

Yevgeniy G. Kiselev*^{a, b}, Anastasiya V. Murueva^{a, b},
Vladimir V. Volkov^c and Tatyana G. Volova^{a, b}

*^aInstitute of Biophysics SB RAS, FRC
“Krasnoyarsk Science Center SB RAS”
Krasnoyarsk, Russian Federation*

*^bSiberian Federal University
Krasnoyarsk, Russian Federation*

*^cKaliningrad State Technical University
Kaliningrad, Russian Federation*

Received 21.04.2024, received in revised form 05.11.2024, accepted 16.11.2024

Abstract. The emulsification of fatty waste from fish processing was studied using different mixing speeds (250–2000 rpm) and a series of surfactants (sodium dodecyl sulfate, sodium cocoyl glutamate, sodium cocoamphoacetate; experimental peptides) at a concentration of 0.1 and 0.3 % with registration of the size distribution of fat droplets and stability of emulsions. Conditions have been found for obtaining finely dispersed and stable emulsions suitable as a biotechnological substrate, providing the possibility of carrying out a sustainable process of cultivating bacteria in the synthesis of bioplastics with high yields (75±5 %) with a complete use of the fatty substrate of 75–80 %.

Keywords: sprat fat, mixing speed, surfactants, emulsification, emulsion stability.

Acknowledgements. The research was carried out at the expense of a grant from the Russian Science Foundation No. 23–64–10007.

Citation: Kiselev Ye. G., Murueva A. V., Volkov V. V., Volova T. G. Effect of stirring and chemical surfactants on the emulsification of fish fat waste as a potential biotechnological carbon substrate. *J. Sib. Fed. Univ. Chem.*, 2024, 17(4), 565–574. EDN: ZKHFQR



Влияние перемешивания и поверхностно-активных веществ на эмульгирование жировых отходов рыбопереработки в качестве потенциального биотехнологического углеродного субстрата

Е. Г. Киселев^{а, б}, А. В. Муруева^{а, б},
В. В. Волков^в, Т. Г. Волова^{а, б}

^аИнститут биофизики СО РАН
Российская Федерация, Красноярск

^бСибирский федеральный университет
Российская Федерация, Красноярск

^вКалининградский государственный
технический университет
Российская Федерация, Калининград

Аннотация. Исследовано эмульгирование жировых отходов рыбопереработки с применением различной скорости перемешивания (250–2000 об/мин) и серии ПАВ (додецилсульфат натрия, кокоилглутамат натрия, кокоамфоацетат натрия; экспериментальные пептиды) в концентрации 0,1 и 0,3 % с регистрацией размерного распределения капель жира и стабильности эмульсий. Найдены условия получения мелкодисперсных и стабильных эмульсий, пригодных в качестве биотехнологического субстрата, обеспечивающего возможность проведения устойчивого процесса культивирования бактерий в режиме синтеза биопластиков с высокими выходами (75±5 %) при полноте использования жирового субстрата 75–80 %.

Ключевые слова: шпротный жир, скорость перемешивания, ПАВ, эмульгирование, стабильность эмульсий.

Благодарности. Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 23–64–10007.

Цитирование: Киселев Е. Г., Муруева А. В., Волков В. В., Волова Т. Г. Влияние перемешивания и поверхностно-активных веществ на эмульгирование жировых отходов рыбопереработки в качестве потенциального биотехнологического углеродного субстрата. Журн. Сиб. федер. ун-та. Химия, 2024, 17(4). С. 565–574. EDN: ZKHFQR

Введение

Процессы биотехнологии обеспечивают получение широкого спектра ценных продуктов медицинского, пищевого и технического назначения с использованием в качестве субстратов широкого спектра индивидуальных соединений, а также промышленных отходов различного происхождения. Возможность биосинтеза целевых продуктов на отходах вносит вклад в “The Circular Economy” [1], повышает эффективность промышленных производств и использование сырьевых ресурсов [2].

Большой потенциал представляют собой крупнотоннажные жиросодержащие отходы пищевой промышленности, накапливающиеся из-за отсутствия рациональных технологий переработки. Количество генерируемого отработанного жира ежегодно составляет порядка 29 миллионов тонн, который представлен жирными кислотами, низкосортными маслами растительного и животного происхождения, отработанными кулинарными жирами, отходами рыбопереработки и др. [3]. Экологически значимым применением этих отходов может стать биотехнологический синтез целевых продуктов, включая разрушаемые биопластики, белок одноклеточных и многое др.

Однако в случае применения жиров в качестве субстрата необходимо обеспечение условий эмульгирования жира для его доступности микробным клеткам. Биотехнологические культивационные среды представляют собой сложные и гетерофазные системы, основой которых служит водный раствор минеральных макро- и микроэлементов, в котором клетки микроорганизмов находятся в виде взвеси, кислород поступает из газовой фазы, а жир формирует эмульсию «масло-в-воде» (М/В). Подобные эмульсии представляют собой термодинамически нестабильные сложные системы, которые со временем могут разделяться на водную и маслянистую фазы [4]. Для предотвращения этого нежелательного явления применяют поверхностно-активные вещества (эмульгаторы) с амфифильными свойствами, которые снижают поверхностное натяжение на границе вода-масло [5], облегчая образование эмульсии и сохраняя физическую стабильность во времени [6], а также действуют как барьер против окисления липидов [7].

В случае использования жира в качестве биотехнологического субстрата следует учитывать, что доступность жира для усвоения клетками зависит от степени его эмульгирования в культивационной среде и активности липолитических ферментов микроорганизмов. При контакте клеток с каплями жира клетки экскретируют липазы, под воздействием которых сложные жировые субстраты метаболизируются. В результате гидролиза липидные триацилглицерины (ТАГ) превращаются в диацилглицерины (ДАГ) и моноглицерины (МАГ) с образованием глицерина и свободных жирных кислот на границе раздела фаз липидов и воды. Продукты гидролиза ТАГ формируют в культуральной среде эмульсию, и исходно сложный липидный субстрат становится доступным для клеток, поступает в них и метаболизируется [8–10]. Эмульгирование жировых субстратов в результате диспергирования масляной эмульсии перемешиванием и с применением поверхностно-активных веществ (ПАВ) является чрезвычайно важным аспектом, так как от этого зависит доступность субстрата и выход продукта, полнота утилизации субстрата и экономика биотехнологических процессов в целом.

Цель представленной работы – исследование влияния скорости перемешивания и применения различных ПАВ на эмульгирование жировых отходов рыбопереработки, рассматриваемых в качестве субстрата биотехнологии.

Объекты и методы

В качестве жирового субстрата исследован шпротный жир, полученный из отходов производства консервов «Шпроты в масле», производимых на предприятиях рыбоконсервной промышленности из кильки балтийской, согласно государственному стандарту РФ [11]. В составе шпротного жира определены липиды (95 %), белки (4 %) и углеводы (1 %); кислотное число 3,26 мг КОН / г; перекисное число 6,63 ммоль активного кислорода / кг [12].

Исследовано влияние скорости перемешивания прямых эмульсий масло/вода (М/В) импеллерной мешалкой (250; 500; 1000; 2000 об/мин) на размерное распределение жировых капель на примере шпротного жира в качестве углеводного субстрата. Для стабилизации эмульсий исследованы эмульгаторы различного типа: додецилсульфат натрия (ДДС-Na) – амфифильный ПАВ (Sigma-Aldrich, США); кокоилглутамат натрия (КГ-Na) (INCI: Sodium Cocosyl Glutamate) – сверхмягкий высокоэффективный анионный ПАВ (Ajinomoto, Япония) и кокоамфоацетат натрия (КА-Na) (INCI: disodium cocoamphodiacetate) – мягкий амфотерный ПАВ (IECIC, China), концентрация которых 0,1 и 0,3 %. Впервые в качестве эмульгаторов исследованы низкомолекулярные пептиды, полученные из вторичного коллагенсодержащего рыбного сырья ферментативным гидролизом и термической обработкой в виде тонкодисперсных порошков с содержанием белка 92 %, влажностью 6,2 %, зольностью 1,7 %, содержанием жиров 0,3 % [13]. Образцы пептидов имели различную молекулярную массу: пептид 1 – массой до 10 кДа и 50 %; содержание белков с молекулярной массой выше 50 кДа 0,4 %; пептид 2 – до 10 кДа – 60 %; содержание белков выше 50 кДа 0,2 %; пептид 3 – до 10 кДа 40 %; содержание белков с молекулярной массой выше 50 кДа 8,5 %.

Эффективность эмульгирования определяли по размерам капель жира, стабильности эмульсий и полноте использования в биотехнологическом процессе. Средний диаметр, размерное распределение и значение ζ -потенциала жировых капель эмульсии определяли методом динамического светорассеяния на анализаторе размера частиц Zetasizer Nano ZS (Malvern, Великобритания). Стабильность эмульсий оценивали методом отстаивания, фиксируя время начала образования жировой фазы и окончание процесса формирования жировой фазы. Полноту использования жирового субстрата определяли в культуре *Cupriavidus necator* B-10646 по разнице содержания общих липидов и жирных кислот в исходной среде и в конце процесса в культуре [12].

Результаты и обсуждение

Исследование влияния скорости перемешивания, химического состава и концентрации ПАВ на эмульгирование жировых отходов рыбопереработки

Размер капель жира в эмульсиях является критическим фактором, влияющим на степень контакта жирового субстрата с микробными клетками и активность микробного метаболизма липидов до компонентов, главным образом жирных кислот, которые, собственно, и являются ростовым субстратом. Очевидно, чем меньше диаметр жировых капель в эмульсии, тем больше их совокупная площадь и площадь контакта между каплями и клетками.

Результаты исследования влияния скорости перемешивания, типа и концентрации ПАВ на размерное распределение жировых капель эмульсии представлены на рис. 1.

Показано, что скорость перемешивания эмульсии оказывала влияние на размер жировых капель. Самый большой, средний размер капель зафиксирован при скорости перемешивания 250 об/мин ($501,3 \pm 85,4$ нм). Полученная эмульсия характеризовалась большой полидисперсностью, коэффициент полидисперсности составил $0,557 \pm 0,001$. Размерное распределение капель изменялось в широких пределах, от 79 до 955 нм. Рис. 1а иллюстрирует наличие двух пиков – первый пик в области 79–142 нм, на который приходится 48,4 % интенсивности; второй пик

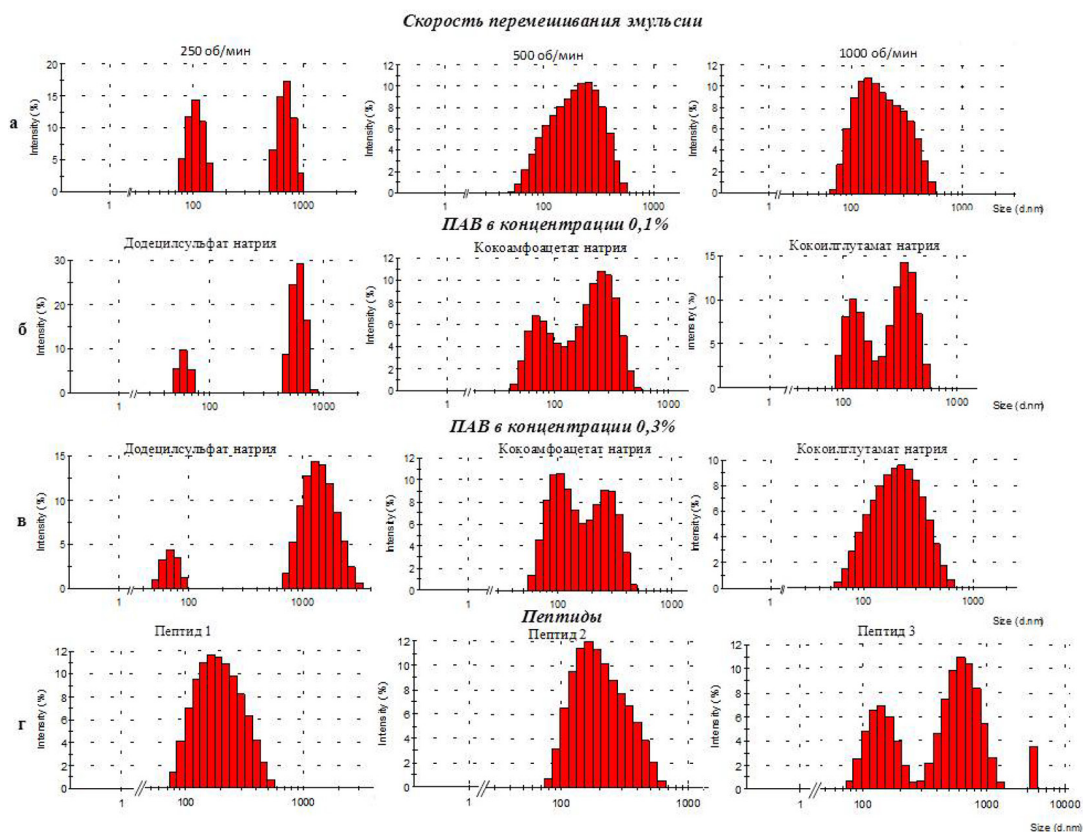


Рис. 1. Размерное распределение капель жира в эмульсиях, полученных при различных параметрах: а – варьирование скорости перемешивания на примере (КГ-Na) в концентрации 0,3 %; б – использование ПАВ различного типа при скорости перемешивания эмульсии 2000 об/мин в концентрации 0,1 %; в – использование различных ПАВ при скорости перемешивания эмульсии 2000 об/мин в концентрации 0,3 %; г – применение пептидов в качестве эмульгатора в концентрации 0,3 % при скорости перемешивания эмульсии 1000 об/мин

Fig. 1. Size distribution of fat droplets in emulsions obtained with various parameters: а – varying the mixing speed using the example of (КГ-Na) at a concentration of 0.3 %; б – use of surfactants of various types at an emulsion mixing speed of 2000 rpm at a concentration of 0.1 %; в – use of various surfactants at an emulsion mixing speed of 2000 rpm at a concentration of 0.3 %; г – the use of peptides as an emulsifier at a concentration of 0.3 % at an emulsion mixing speed of 1000 rpm

в области 531–955 нм 52,6 % интенсивности. При увеличении скорости перемешивания до 500 и 1000 об/мин средний размер капель уменьшился соответственно до $234,4 \pm 7,7$ нм и $245,6 \pm 39,8$ нм. Эмульсия, полученная при 500 об/мин, имела более высокую полидисперсность $0,463 \pm 0,015$, размерное распределение капель варьировало от 59 до 531 нм, при этом порядка 38,1 % интенсивности приходилось на капли с размером от 91 до 295 нм. Размерное распределение капель эмульсии, полученной при 1000 об/мин, было более узким, коэффициент полидисперсности составил $0,366 \pm 0,055$; размерное распределение капель варьировало от 68 до 531 нм, при этом 72,6 % интенсивности дали капли размером от 91 до 295 нм. Минимальный размер капель эмульсии получен при 2000 об/мин. Средний диаметр капель составил $211,8 \pm 28,2$ нм при полидисперсности $0,398 \pm 0,027$. Размерное распределение капель жира варьировало от 59 до 615 нм, 60,8 % было представлено каплями размером от 91–295 нм (рис. 1в).

Химическая природа и концентрация ПАВ в эмульсии также оказывали существенное влияние на размер и размерное распределение жировых капель (рис. 1б, в). Так, при использовании ДДС-На в концентрации 0,1 % имела максимальный средний диаметр жировых капель, который составил $905,2 \pm 166,3$ нм при индексе полидисперсности, равном $0,676 \pm 0,350$. Размеры жировых капель варьировали в широком диапазоне от 50 до 956 нм. Использование КГ-На и КА-На в концентрации 0,1 % привело к снижению среднего диаметра жировых капель до $354,7 \pm 55,72$ и $263,2 \pm 28,71$ нм и индекса полидисперсности до $0,525 \pm 55,72$ и $0,398 \pm 0,058$ соответственно, по сравнению с использованием ДДС-На. С увеличением концентрации исследуемых ПАВ средний диаметр жировых капель уменьшался (рис. 1в). Так, эмульсия на основе шпротного жира, полученная с применением в качестве эмульгатора ДДС-На в концентрации 0,3 %, имела широкое размерное распределение со средним размером капель жира $865 \pm 158,9$ нм при высоком значении полидисперсности – $0,713 \pm 0,093$. При этом размеры жировых капель варьировали в широком диапазоне от 50 до 3000 нм. Увеличение концентрации КА-На до 0,3 % несущественно влияло на размерное распределение и средний диаметр жировых капель, который составил $371 \pm 104,3$ нм. Размерное распределение варьировало в более узком диапазоне от 60 до 458 нм, индекс полидисперсности составил $0,58 \pm 0,105$. Увеличение концентрации КГ-На до 0,3 % привело к снижению среднего диаметра капель практически в 1,5 раза и составило $211,8 \pm 28,2$ нм.

Эмульгирующая способность пептидов описана в работах [13–14]. Показано, что подобные пептиды характеризуются оптимальным сочетанием эмульгирующих свойств, стабилизируют распределение капель по размерам и замедляют окисление липидов [13–14]. Эмульсии на основе шпротного жира, полученные с пептидами различной молекулярной массы, имели широкое размерное распределение, средний размер капель жира варьировал в широких пределах (рис. 1г). Самый маленький средний размер капель жира получен при использовании пептида 1, – 299 ± 51 нм при полидисперсности $0,41 \pm 0,03$. Аналогичные характеристики (средний размер капель жира 292 ± 13 нм, полидисперсность $0,53 \pm 0,06$) получены с применением пептида 2. Применение пептида 3 было менее эффективным; средний размер капель и полидисперсность возрастали до 544 ± 108 нм и $0,70 \pm 0,12$.

Исследование электрокинетического потенциала жировых эмульсий, полученных при варьировании скорости перемешивания, химического состава и концентрации исследованных ПАВ, не выявило существенных различий в величине ζ -потенциала, который лежал в пределах от -80 до -90 мВ для всех изученных эмульсий.

Исследование влияния скорости перемешивания, типа и концентрации ПАВ на стабильность эмульсий

Исследована стабильность эмульсий и время их разделения, происходящее в результате протекающих процессов коагуляции и коалесценции. Показано, что стабильность эмульсий, полученных перемешиванием, возрастает при увеличении скорости перемешивания от 250 до 2000 об/мин. Наименьшую стабильность показали эмульсии, полученные при 250 и 500 об/мин. Время до начала разделения эмульсии составило 30 секунд. При переходе системы в равновесное состояние через 46 ч в эмульгированном состоянии осталось 25 % жира (250 об/мин).

Для эмульсии, полученной при 500 об/мин, количество эмульгированного жира составило 37,5 %. Эмульсии, полученные при 1000 и 2000 об/мин, показали более высокую устойчивость,

их разделение началось через 30 мин и 75 мин соответственно. Стабильность этих эмульсий сохранялась до 70 ч, при этом до 50 % жира оставалось в эмульгированном состоянии.

Результаты применения для эмульгирования шпротного жира ПАВ в концентрации 0,1 и 0,3 % иллюстрирует рис. 2. Во всех случаях при более высокой концентрации эмульгатора (0,3 %) показано повышение стабильности эмульсий (рис. 2). При применении ПАВ в концентрации 0,1 % наиболее стабильными были эмульсии, полученные при использовании КГ-На и скорости перемешивания 2000 об/мин; время до начала расслоения составило 50 мин. Стабильность всех эмульсий, полученных при 250 об/мин и 500 об/мин не превышала двух минут, независимо от используемого ПАВ и концентрации. При этих скоростях перемешивания наиболее устойчивые эмульсии получены при использовании ДДС-На и КА-На в концентрации

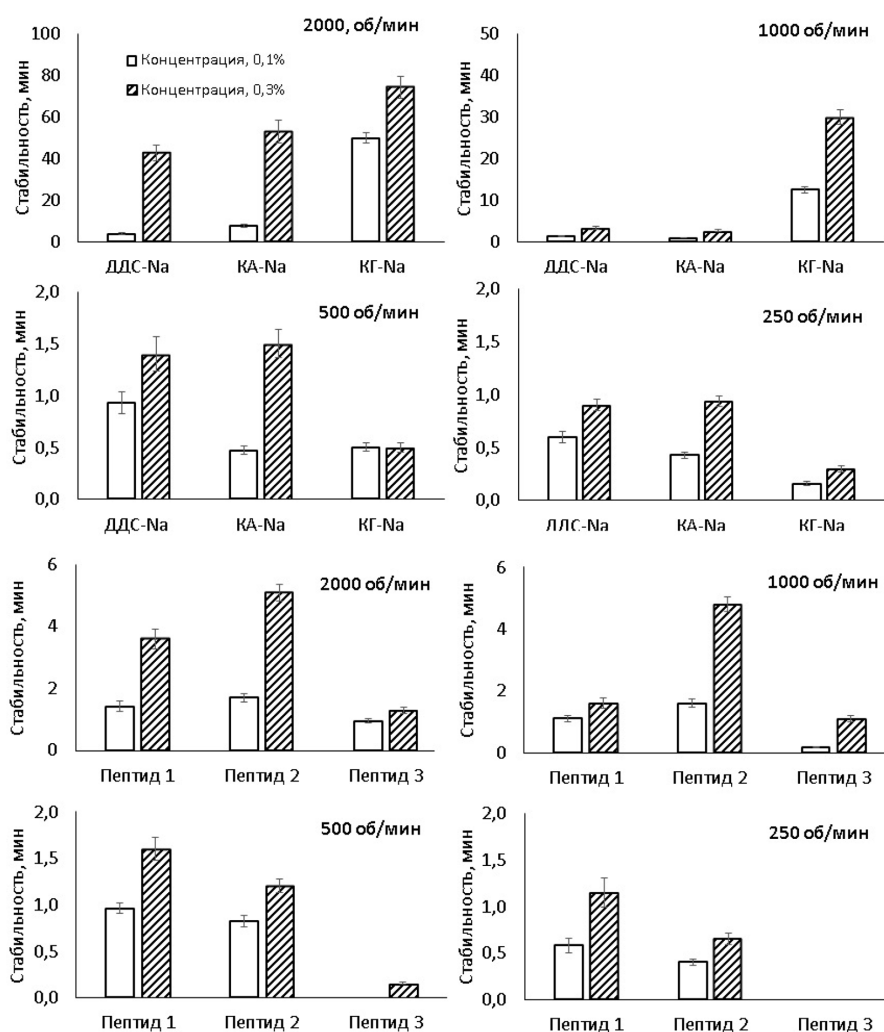


Рис. 2. Стабильность эмульсий масло/вода на основе шпротного жира, полученных при использовании различных ПАВ в качестве эмульгатора и скорости перемешивания

Fig. 2. Stability of oil/water emulsions based on sprat fat obtained using various surfactants as an emulsifier and stirring speed

0,3 %. При увеличении скорости перемешивания до 1000 об/мин с применением КГ-На в концентрации 0,3 % стабильность эмульсии возрастала в 100 раз, до 30 мин, по сравнению с показателем при 250 об/мин (0,3 мин до начала расслоения). При увеличении оборотов мешалки до 2000 об/мин, стабильность эмульсии повышалась скачкообразно для всех ПАВ: ДДС-На – 42,7 мин; КА-На – 53 мин; КГ-На – 75 мин.

Эмульсия самой низкой устойчивости получена при использовании ДДС-На в концентрации 0,1 % при 250 об/мин. Полное расслоение на две устойчивые фазы произошло в течение 2 ч, остаточное содержание шпротного жира в образовавшейся эмульсии составило не менее $0,14 \pm 0,04$ мл/100 мл воды. Это составляет 6 ± 2 % от исходного содержания. Увеличение скорости перемешивания до 2000 об/мин снижало скорость коалесценции, при этом время, затраченное на достижение стабильного состояния, возросло до 10 ч. Образованная эмульсия содержала не менее $1,25 \pm 0,13$ мл/100 мл, то есть 53 ± 6 % от исходной жировой фазы. Самое длительное время стабилизации эмульсии для этой концентрации ПАВ зафиксировано при использовании КА-На, которое составило 139 ч при содержании жира в эмульсии не менее 50 ± 5 % от исходного количества.

Увеличение концентрации ПАВ до 0,3 % приводило к значительному снижению скорости расслоения и стабилизации полученных эмульсий. Так, при использовании ДДС-На время до образования устойчивого состояния увеличилось до 90–117 ч, при этом при 250 об/мин доля шпротного жира, которая осталась в полученной эмульсии, увеличилась до $0,82 \pm 0,12$ мл/100 мл. Это на 29 % больше, чем в эмульсии, полученной при концентрации ДДС 0,1 %. Эмульсии, полученные при 1000 и 2000 об/мин с использованием КА-На, после стабилизации характеризовались самым высоким содержанием шпротного жира – $1,53 \pm 0,05$ мл/100 мл (65 ± 4 %) и $1,65 \pm 0,13$ мл/100 мл (71 ± 5 %) соответственно. В эмульсиях, полученных с использованием КГ-На, после завершения активной коалесценции доля шпротного жира была на уровне $0,68 \pm 0,08$ мл/100 мл и при повышении оборотов мешалки до 2000 об/мин увеличилась до $1,35 \pm 0,10$ мл/100 мл, что соответствует 50 % жира от исходного количества. Эмульсии с КГ-На показали большую стабильность, однако повышение концентрации с 0,1 до 0,3 %, как и в случае с ДДС-На, не привело к значительному росту доли шпротного жира в стабильной эмульсии, его доля составила в среднем 46–53 % от исходного количества.

В процессе стабилизации эмульсий изменяются дисперсность и величина удельной поверхности жировых капель. Коагуляционные взаимодействия частиц происходят путем преодоления энергетических барьеров, созданных сольватными оболочками и выражающихся в их расклинивающем давлении, дальнейшим развитием коагуляции является коалесценция. Поэтому эмульсии, полученные с использованием более высоких концентраций ПАВ, характеризуются большей устойчивостью за счет образования сольватных оболочек большей толщины, что приводит к снижению процессов коалесценции. Увеличение оборотов мешалки при эмульгировании позволяет получить эмульсии с более развитой удельной поверхностью дисперсной фазы, что выражается в уменьшении размера жировых капель. Это, в свою очередь, приводит к повышению стабильности эмульсии, так как кинетическая устойчивость обратно пропорциональна квадрату радиуса капель дисперсной фазы.

Все эмульсии, полученные с применением в качестве эмульгаторов экспериментальных партий пептидов, оказались менее стабильными. Самая низкая стабильность характерна для

эмульсии, полученной с использованием пептида 3. Этот пептид характеризуется наличием высокомолекулярных фракций, которые, возможно, препятствуют сорбции на поверхности жировых капель. При 250 и 500 об/мин получить устойчивую эмульсию не удалось.

Как и в случае с ПАВ, при увеличении концентрации пептидов до 0,3 % эмульсии становились более стабильными. При использовании пептидов 1 и 2 и скорости перемешивания 1000 и 2000 об/мин эмульсии были наиболее стабильными, доля эмульгированного жира в них составила 50 %. При использовании пептида 3 не превышала 30 %. Время до начала разделения эмульсии в случае пептида 1 составляло 3,2 мин, время окончания образования жировой фазы – 238 мин; остаточное количество жира в эмульсии было на уровне 50 %. Для пептида 2 эти показатели составили соответственно 4,8 мин, 238 мин и 50 %. При использовании пептида 3 показатели были на уровне 1,1 мин, 50 мин и 33 % соответственно. Неудовлетворительные эмульгирующие свойства пептидов могут быть связаны с их недостаточной концентрацией, однако дальнейшее увеличение концентрации пептидов приведет к повышению вязкости среды, что нежелательно для биотехнологических процессов. Необходимость более высоких концентраций пептидов обусловлена отличным от ПАВ механизмом действия. ПАВы за счет наличия гидрофильных и гидрофобных участков способны взаимодействовать как с жировой, так и водной фазой, пептиды растворяются в воде и не растворяются в жировой фазе, поэтому способны только адсорбироваться на поверхности дисперсной фазы в качестве механических частиц.

Эмульгирование шпротного жира при скорости перемешивания свыше 1000 об/мин и исследованных ПАВ, за исключением пептидов, обеспечивало возможность проведения устойчивого процесса культивирования бактерий в режиме синтеза разрушаемых биопластиков с высокими выходами (75 ± 5 %) при полноте использования жирового субстрата на уровне 75–80 %.

Заключение

Исследовано эмульгирование жировых отходов рыбопереработки с применением различных ПАВ и скорости перемешивания. Найдены условия, обеспечивающие получение мелкодисперсных и стабильных эмульсий, пригодных в качестве биотехнологического субстрата для синтеза целевых продуктов.

Список литературы / References

- [1] Parlato M. C. M., Valenti F., Porto S. M. C. Covering plastic films in greenhouse system: a GIS-based model to improve post use sustainable management. *J. Environ. Manag.* 2020. 263, 110389.
- [2] Choi S. Y., Lee Y., Yu H. E., Cho I. J., Kang M., Lee S. Y. Sustainable production and degradation of plastics using microbes. *Nature microbiology* 2023. 8, 2253–2276.
- [3] Ganesh M., Pandit A. B., Gogate P. R. Adsorptive Removal of Saturated and Unsaturated Fatty Acids Using Ion-Exchange Resins. *Industrial & Engineering Chemistry Research*. 2012. 51(19), 6869–6876
- [4] McClements D. J. Food Emulsion Principles, Practices, and Technique. 2nd ed. CRC Press: Boca Raton, FL, USA, 2005. 632.
- [5] Jacobsen C. Some strategies for the stabilization of long chain n-3 PUFA-enriched foods: A review. *European Journal Lipid Science Technology* 2015. 117, 1853–1866.

- [6] Ozturk B., McClements D.J. Progress in natural emulsifiers for utilization in food emulsions. *Current Opinion Food Science*. 2016. 7, 1–6.
- [7] McClements D.J. Food Emulsions. 3th ed.; CRC Press: Boca Raton, FL, USA, 2015. 714.
- [8] Green P.R., Kemper J., Schechtman L., Guo L., Satkowski M., Fiedler S., Steinbüchel A., Rehm B.H., Formation of short chain length medium chain length polyhydroxyalkanoate copolymers by fatty acid beta-oxidation inhibited *Ralstonia eutropha*. *Biomacromolecules*. 2002. 3, 208–213.
- [9] Bhubalan K., Kam Y. C., Yong K. H., Sudesh K. Cloning and expression of the PHA synthase gene from a locally isolated *Chromobacterium* sp. USM2. *Malaysian Journal Microbiology*. 2010. 6, 81–90.
- [10] Lu J., Brigham C. J., Rha C., Sinskey A. J. Characterization of an extracellular lipase and its chaperone from *Ralstonia eutropha* H16. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 2013. 97, 2443–24540.
- [11] ГОСТ РФ 280 – 2021 Консервы рыбные. «Шпроты в масле».
- [12] Zhila N. O., Sapozhnikova K. Yu., Kiselev E. G., Shishatskaya E. I., Volova T. G. Synthesis and properties of polyhydroxyalkanoates on waste fish oil from the production of canned sprats. *Processes*. 2023. 11(7). 2113.
- [13] Баженов Е. А., Байдалинова Л. С., Волков В. В., Гримм Т. Опыт получения пептидов с низкой молекулярной массой из различных видов вторичного рыбного сырья. *Известия КГТУ*. 2023, 71, 84–100. [Bazhenov E. A., Baidalinova L. S., Volkov V. V., Grimm T. Experience in obtaining peptides with low molecular weight from various types of secondary fish raw materials. *News of KSTU*. 2023, 71, 84–100. (In Rus.)]
- [14] Padial-Domínguez M., Espejo-Carpio F.J., Pérez-Gálvez R., Guadix A., Guadix E.M. Optimization of the Emulsifying Properties of Food Protein Hydrolysates for the Production of Fish Oil-in-Water Emulsions. *Food*. 2020. 9, 636–652.