

На правах рукописи

Костюрина Кристина Валерьевна

**РАЗРАБОТКА ТЕХНОЛОГИИ КОРМОВЫХ РЫБНЫХ
АВТОЛИЗАТОВ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ФЕРМЕНТНОГО КОМПЛЕКСА
ВНУТРЕННИХ ОРГАНОВ ПРОМЫСЛОВЫХ РЫБ
ВОЛГО-КАСПИЙСКОГО БАССЕЙНА**

05.18.04 – Технология мясных, молочных и рыбных продуктов и
холодильных производств

Костюрина

Автореферат

диссертации на соискание ученой степени

кандидата технических наук

Москва - 2010

Работа выполнена в Федеральном государственном образовательном учреждении высшего профессионального образования «Астраханский государственный технический университет» (ФГОУ ВПО «АГТУ»)

Научный руководитель: кандидат технических наук, доцент
Цибизова Мария Евгеньевна

Официальные оппоненты: доктор технических наук, доцент
Боева Нэля Петровна

кандидат технических наук, доцент
Лысова Альбина Сергеевна

Ведущая организация: ФГОУ ВПО «Кубанский государственный
технологический университет»

Защита диссертации состоится «15» ноября 2010 г. в 10:00 на заседании диссертационного совета Д 307.004.03 при ФГУП «Всероссийский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства и океанографии» (ФГУП «ВНИРО») по адресу: 107140, г. Москва, ул. Верхняя Красносельская, дом 17.

Факс: (499) 264-91-87; e-mail: fishing@vniro.ru

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГУП «Всероссийский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства и океанографии» (ФГУП ВНИРО)

Автореферат разослан «22» октября 2010 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета Д 307.004.03,

кандидат технических наук



Татарников В.А.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность работы. Концепция развития рыбного хозяйства Российской Федерации на период до 2020 г., одобренная распоряжением Правительства Российской Федерации, предусматривает достижение устойчивого функционирования рыбохозяйственного комплекса страны на основе сохранения, воспроизводства и рационального использования водных биологических ресурсов, развития аквакультуры.

В приоритетных направлениях научно-технического развития рыбной отрасли в области рационального природопользования отражена разработка комплексных ресурсосберегающих технологий переработки гидробионтов промыслового значения с утилизацией отходов от их разделки, максимального использования нетрадиционных объектов, в том числе малорентабельного рыбного сырья, переработка которого на пищевые цели в свете особенностей технологических характеристик не является экономически выгодной (Абрамова Л.С., Андрусенко П.И., Кузнецов Ю.А., Мамонтов Ю.П.).

Рыбный белок является неотъемлемой частью кормовых композиций, значимость которого обусловлена высокой биологической и физиологической ценностью (Боева Н.П., Девяткин А.И., Егоров И., Исаев В.А., Ковров Г.В., Лемешева М.М., Мосолов Н.Д., Мухин В.А., Петреченко Л.К., Рубан Б.В., Свеженцов А.И.).

Практические аспекты производства рыбной муки, связанные с проблемами ее получения на рыбопромысловых судах и береговых предприятиях из-за повышенных экономических затрат на топливо, наличия рыбомучных установок большой производительности, антропогенного воздействия данного производства на окружающую среду, требуют поиска новых технологических решений переработки нерентабельного сырья и отходов рыбоперерабатывающей промышленности (Аббакумов В.Г., Боева Н.П., Исаев В.А.).

Вопросами исследования и применения ферментативных технологий в переработке водных биологических ресурсов занимались многие ученые: Антипова Л.В., Боева Н.П., Борисочкина Л.И., Долганова Н.В., Касьянов Г.И., Кизеветтер И.В., Константинова Л.И., Куцакова Е.А., Лысова А.С., Мезенова О.Я., Мукатова

М.Д., Мухин В.А., Пивненко Т.Н., Поверин А.Д., Некрасова Г.Т., Новикова М.В., Разумовская Р.Г., Рехина Н.И., Слущкая Т.Н., Черногорцев А.П., Шендерюк В.И., Adams, Adler-Nissen, Cohen, Cruston, Hassan, Rutman, Ushida и многие другие. В работах этих ученых показано, что наиболее мягким и естественным способом деструкции рыбного белка является ферментативный гидролиз, совершенствование технологии которого развивается не только по пути максимального сохранения в гидролизатах нативных свойств белковых, липидных и других биологически активных компонентов, но и повышение их доступности за счет обоснования необходимой степени деструкции белка.

Принимая во внимание необходимость комплексного использования маломерного рыбного сырья, а также отходов от переработки промысловых объектов актуальным представляется разработка ресурсосберегающей технологии кормовых автолизатов повышенной биологической и физиологической ценности, и обладающих максимальной доступностью для желудочно-кишечного тракта сельскохозяйственных животных и птиц.

Цель работы заключалась в разработке технологии кормовых автолизатов из маломерного рыбного сырья и использовании в качестве оптимизирующего фактора жидкого комплекса протеолитических ферментов с определенной протеолитической активностью, полученного из внутренних органов промысловых рыб Волго-Каспийского бассейна.

Для достижения поставленной цели необходимо решить следующие **задачи**:

1. Установить влияние сезона вылова и замораживания на протеолитическую активность, химический состав маломерного рыбного сырья и внутренних органов, и на степень гистологических изменений мышечной ткани рыбы;
2. Разработать и обосновать рациональные режимы и параметры получения жидкого комплекса протеолитических ферментов (ЖКПФ) из внутренних органов промысловых рыб и изучить протеолитическую активность полученного ЖКПФ;
3. Обосновать рациональные параметры получения рыбных автолизатов из маломерного сырья Волго-Каспийского бассейна на основе автопротеолиза с использованием ЖКПФ;

4. Разработать математическую модель и оптимизировать процесс автолиза маломерного рыбного сырья ферментным комплексом из внутренних органов рыб с определенной протеолитической активностью;
5. Изучить зависимость молекулярно-массового распределения азотсодержащих фракций рыбных автолизатов с использованием ЖКПФ от степени расщепления белка и обосновать направления его использования;
6. Нарботать опытные партии жидкого комплекса протеолитических ферментов и рыбных автолизатов с использованием ЖКПФ, исследовать их энергетическую, биологическую ценность и токсикологическую безопасность;
7. Провести биологические испытания полученных продуктов в составе полнорационных кормов для сельскохозяйственных птиц яичного и мясного направления;
8. Рассчитать экономическую эффективность от внедрения разработанной технологии получения рыбных автолизатов из маломерного рыбного сырья с использованием ЖКПФ;
9. Разработать нормативную документацию на сухой белковый автолизат из рыбного сырья (РГ-ОПТИМА) и комплекс протеолитических ферментов из внутренних органов рыбного сырья, сухой (СКПФ).

Научная новизна работы.

- Выявлена зависимость изменения протеолитической активности сырья от сезона вылова и влияние замораживания на степень гистологических изменений мышечной ткани и протеолитическую активность маломерного рыбного сырья и внутренних органов промысловых рыб.
- Установлено влияние ЖКПФ с определенной протеолитической активностью на интенсивность процесса автопротеолиза маломерного рыбного сырья, позволившее оптимизировать технологические параметры получения рыбного автолизата.
- Установлена зависимость молекулярно-массового распределения азотсодержащих фракций рыбных автолизатов с использованием ЖКПФ от степени де-

загребации рыбного белка в них, регламентирующая направления его использования.

Практическая значимость работы. Разработана технология кормовых рыбных автолизатов из маломерного рыбного сырья с использованием ЖКПФ, полученного из внутренних органов промысловых рыб Волго-Каспийского бассейна.

Разработаны и утверждены нормативные документы на опытные партии сухого белкового автолизата из рыбного сырья (РГ-ОПТИМА) и комплекс протеолитических ферментов из внутренних органов рыбного сырья, сухой (СКПФ).

Новизна технологических решений подтверждена патентом РФ № 2343710 на «Способ получения автолизата из рыбного сырья». На заявку № 2009125406/035316 «Полнорационный корм для птицеводства» получен приоритет от 7.08.09.

Полученные автолизаты апробированы в производственных условиях в ООО «Агрокомплекс» (г. Камызяк Астраханской области), ГП АО «Сельхозпредприятие «Птицефабрика «Бэровская» (с Икряное, Астраханской области).

Основные положения, выносимые на защиту:

- обоснование технологических параметров получения жидкого комплекса протеолитических ферментов из внутренних органов промысловых рыб Волго-Каспийского бассейна;
- разработанные технологические режимы получения рыбного автолизата с использованием жидкого комплекса протеолитических ферментов;
- изучение биологической ценности рыбного автолизата с использованием жидкого комплекса протеолитических ферментов;
- применение полученных рыбных автолизатов в составе кормовых смесей для птиц яичного и мясного направлений.

Апробация работы. Основные результаты исследований представлялись на Международных, Всероссийских симпозиумах и конференциях, в том числе: IV МНМК студентов и молодых ученых «Живые системы и биологическая безопасность населения» (Москва 2005), ВНК «Инновационные технологии в управлении, образовании, промышленности» (Астрахань, 2007), Международного симпо-

зиума «Тепловодная аквакультура и биологическая продуктивность водоемов аридного климата» (Астрахань, 2007), МНПК «Состояние, охрана, воспроизводство и устойчивое использование биологических ресурсов внутренних водоемов» (Волгоград, 2007), МНПК «Перспективные нано- и биотехнологии в производстве продуктов функционального назначения» (Краснодар, 2007), МНПС семинара молодых ученых и студентов «Природные ресурсы Каспийского моря и устойчивое развитие прибрежных территорий» (Астрахань, 2007), Конференции молодых ученых «Каспийский инновационный форум» (Астрахань, 2009), МНПК ФГОУ ВПО «АГТУ» (Астрахань, 2006- 2009 гг.), заседаниях кафедры «Пищевая биотехнология и технология продуктов питания» (2006-2010).

Материалы работы отражены в инновационном проекте, представленном для участия в МНТК «ИнноКаспий - 2009», аккредитованной по программе «УМНИК», где был получен диплом победителя с финансированием проекта (договор № 7066 Р/96-12).

Публикации. Основное содержание диссертационной работы опубликовано в 13 работах, в том числе 1 патенте РФ на изобретение, и в 4 изданиях, рекомендованных ВАК РФ.

Структура и объем работы. Диссертация состоит из введения, 6 глав, выводов, списка литературы, включающего 267 источников отечественных и зарубежных авторов, в том числе 42 зарубежных авторов. Работа изложена на 164 страницах основного текста, содержит 50 таблиц, 11 рисунков. В приложениях представлены нормативная документация, акты производственных испытаний, акты выработки опытных партий рыбного автолизата с использованием ЖКПФ.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Во введении обоснована актуальность темы диссертационной работы, сформулированы научная новизна, положения, выносимые на защиту.

В первой главе «**Анализ литературных и патентных источников по способам получения гидролизатов**» проведен критический анализ научной, технической и патентной литературы в области получения гидролизатов. Отражена роль ферментов в технологии переработки гидробионтов и аспекты использова-

ния рыбных гидролизатов в кормопроизводстве. Сформулированы цель и задачи исследования.

Во второй главе **«Объекты и методы исследования»** представлена программно-целевая схема проведения исследований (рис.1), приведена характеристика объектов и методов исследования, описана постановка экспериментов.

В качестве объектов исследования использованы маломерное рыбное сырье Волго-Каспийского бассейна: густера (*Blicca bjoerkna (linne)*), синец (*Abramis balerus (Linne)*), чехонь (*Pelecus cultratus*), тарань (*Rutilus heckelii*) осеннего и весеннего вылова, отходы от разделки промысловых рыб - внутренние органы карася, сазана, щуки, сома, судака осеннего и весеннего вылова, жидкий комплекс протеолитических ферментов и рыбные автолизаты, полученные с использованием ЖКПФ, кормовые смеси, содержащие автолизаты.

В работе использовали стандартные и общепринятые в рыбной отрасли химические, физико-химические, органолептические, микробиологические и токсикологические методы. Определение ФТА осуществляли в модификации Черногорцева (Черногорцев, 1973); ПА определяли модифицированным методом Ансона (Черногорцев, 1973; Польшгалина, 2003).

Молекулярно-массовое распределение азотсодержащих фракций рыбных автолизатов определяли методом молекулярных сит на гель-хроматографе с применением колонок с сефадексом G-25,75 (Досон, 1991). Статистическую обработку данных проводили при помощи программного обеспечения Windows Microsoft Office 2007, программного пакета Statistica 6.0.

В третьей главе **«Результаты исследования и их обсуждение»** в разделе *«Изучение общего химического состава и протеолитической активности сырья Волго-Каспийского бассейна»* на основании собственных результатов и литературных данных проведена оценка технологического потенциала маломерного рыбного сырья, которое по содержанию белка и жира с учетом БВК можно отнести к белковому среднежирному, что позволяет использовать его для производства пищевой продукции, но малые размеры и невысокий выход съедобной части, нестабильная активность ферментативной системы сырья, особенности

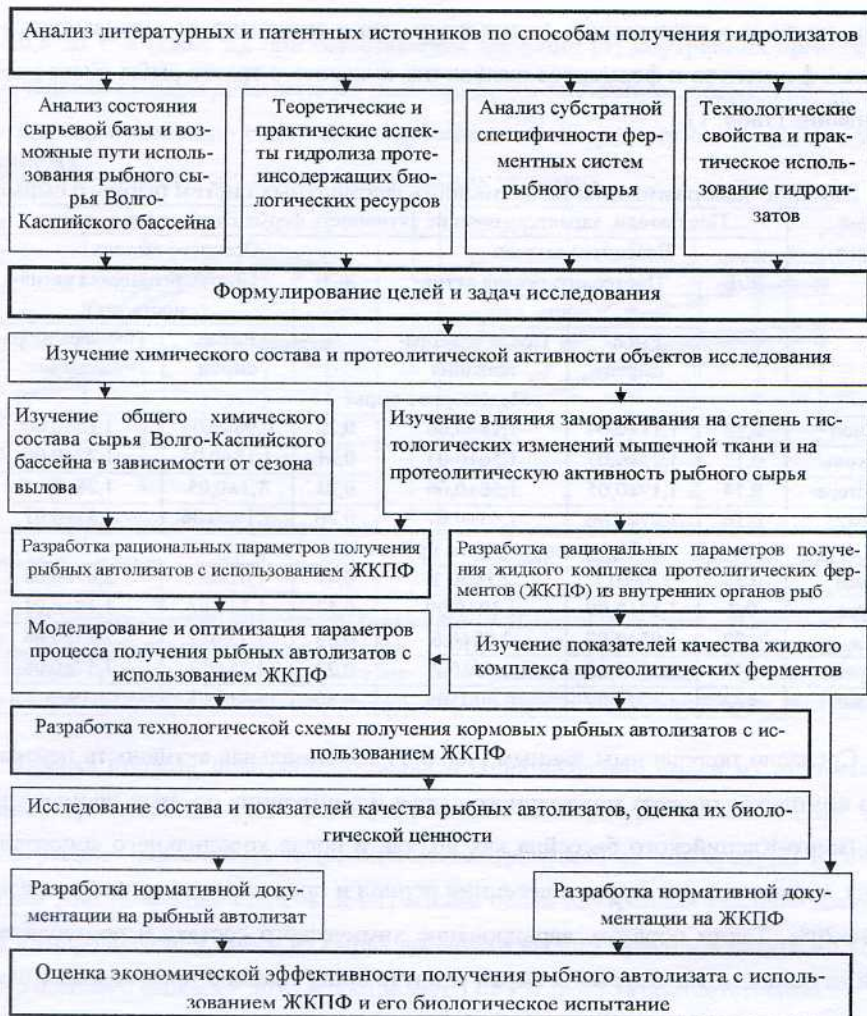


Рис. 1 - Программно-целевая схема проведения исследований

морфологической структуры рекомендуют использовать данное сырье на производство кормовой продукции (Сафронова, 2004).

Проведенное нами изучение влияния замораживания на гистологические изменения мышечной ткани маломерного сырья и на протеолитическую активность объектов исследования показало, что продолжительное холодильное хранение (до 6 месяцев) оказывает влияние не только на гистологическую структуру мышечной

ткани, приводя к разрушению ее структуры, но и активизирует деятельность мышечных ферментов и ферментов желудочно-кишечного тракта рыбы после размораживания (табл. 1).

Таблица 1

Влияние замораживания на активность ферментных систем рыбного сыра

Виды сыра	Показатели, характеризующие активность ферментной системы сыра					
	Весеннего вылова			Осеннего вылова		
	Ж/Б	Протеолитическая активность, ед/г		Ж/Б	Протеолитическая активность, ед/г	
		Рыбасырец	После размораживания		Рыбасырец	После размораживания
Маломерное сырье						
Синец	0,12	1,11±0,04	1,18±0,06	0,22	0,96±0,04	1,15±0,06
Чехонь	0,12	1,25±0,03	1,56±0,05	0,21	1,18±0,04	1,27±0,06
Густера	0,14	1,19±0,05	1,56±0,06	0,23	1,1±0,05	1,25±0,06
Тарань	0,16	1,27±0,06	1,65±0,07	0,26	1,19±0,06	1,37±0,07
Внутренние органы промыслового сыра						
Сазан	0,32	1,76±0,1	2,16±0,1	0,47	1,62±0,2	2,07±0,08
Щука	0,7	1,14±0,09	1,19±0,09	0,57	1,1±0,08	1,18±0,03
Сом	0,32	1,95±0,07	2,28±0,6	0,33	1,73±0,2	2,15±0,08
Карась	0,15	1,37±0,08	1,65±0,2	0,22	1,28±0,1	1,57±0,08
Судак	0,32	1,13±0,09	1,21±0,09	0,86	1,2±0,08	1,19±0,3

Согласно полученным данным (табл. 1) максимальная активность нейтрального комплекса протеаз маломерного сыра и внутренних органов промысловых рыб Волго-Каспийского бассейна как до, так и после холодильного консервирования, характерна для сыра в весенний период и превосходит осенний в среднем на 14-20%. Таким образом, варьирование химического состава и протеолитической активности маломерного сыра и внутренних органов промысловых рыб в зависимости от сезона вылова необходимо учитывать при разработке рациональных режимов получения ЖКПФ и рыбных автолизатов с использованием ЖКПФ.

В разделе «Разработка рациональных технологических параметров получения жидкого комплекса протеолитических ферментов из внутренних органов рыбного сыра» показано, при получении ЖКПФ из внутренних органов промысловых рыб, прошедших холодильное консервирование, варьирование температуры составляло от 30 до 60°C (рис.2, 3) и гидромодуля «внутренние органы:вода»

от 1:0,5 до 1: 2 (табл. 2), при естественном значении рН внутренних органов 6,2 ±0,3. Оценка степени дезагрегации рыбного белка внутренних органов промысловых рыб по изменению отношения тирозина к общему азоту смеси (Т/ОА, %) в течение 10 часов при созданных асептических условиях.

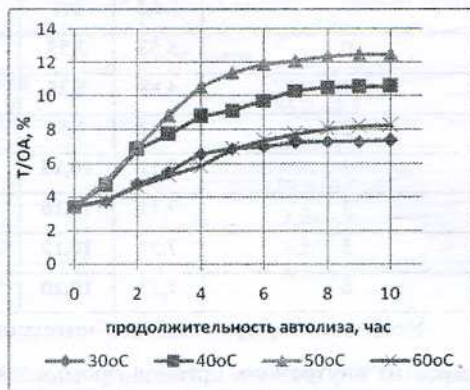
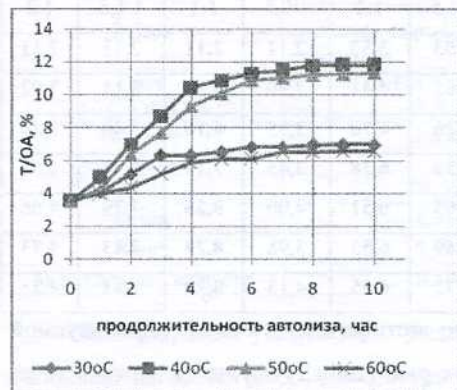


Рис. 2 Изменения степени дезагрегации белка (Т/ОА, %) в гидролизуемой смеси из внутренних органов промысловых рыб весеннего вылова при варьировании температуры автолиза

Рис. 3 Изменения степени дезагрегации белка (Т/ОА, %) в гидролизуемой смеси из внутренних органов промысловых рыб осеннего вылова при варьировании температуры автолиза

Оценка степени дезагрегации белка в гидролизуемой смеси из внутренних органов промысловых рыб при варьировании температуры автолиза (рис. 2,3) подтверждают зависимость гидролитических процессов от температуры и сезона вылова. Максимальная степень дезагрегации белка внутренних органов достигается в гидролизуемой смеси из сырья весеннего вылова при температуре 40°C, из сырья осеннего вылова – 50°C и составляет 11,83 и 12,46 % соответственно.

Изучение динамики изменения степени дезагрегации белка в гидролизуемой смеси из внутренних органов промысловых рыб, протекающей при установленных рациональных температурных режимах (табл.2) показывает, что увеличение гидромодуля процесса автолиза внутренних органов промысловых рыб весеннего и осеннего вылова до 1:1 повышает количество гидролизованного белка в 1,9 и 1,8 раза соответственно. Дальнейшее увеличение гидромодуля до 1:2 снижает скорость расщепления белка внутренних органов рыб, что связано с замедлением скорости образования фермент-субстратного комплекса в гидролизуемой смеси.

Таблица 2

Изменение степени дезагрегации белка (Т/ОА,%) в гидролизуемой смеси из внутренних органов при оптимальном гидромодуле

Продолжительность автолиза, час	Внутренние органы промысловых рыб							
	Весеннего вылова (при 40°C)				Осеннего вылова (при 50°C)			
	1:0,5	1:1	1:1,5	1:2	1:0,5	1:1	1:1,5	1:2
0	3,53	3,53	3,53	3,53	2,11	2,11	2,11	2,11
1	4,88	5,25	4,65	4,41	2,90	4,54	3,11	3,02
2	6,42	7,51	5,26	4,70	3,55	6,16	5,48	3,89
3	7,11	10,18	7,53	6,38	3,45	7,17	6,78	4,58
4	7,11	10,16	7,65	6,51	4,00	8,23	7,79	4,66
5	7,22	10,19	7,69	6,53	3,98	8,24	7,83	4,73
6	7,23	10,20	7,72	6,55	4,13	8,29	7,83	4,75

Установлено, что наиболее интенсивно автопротеолиз белка гидролизуемой смеси из внутренних органов промысловых рыб (табл.2) осуществляется в течение первых 3 часов и достигает 10,18% и 7,17 % (весенний и осенний вылов), в дальнейшем интенсивность процесса дезагрегирования белка стабилизируется, что приводит к незначительному увеличению степени расщепления белка гидролизуемой смеси. Рекомендуемая нами рациональная продолжительность процесса получения ЖКПФ из внутренних органов промысловых рыб осеннего и весеннего вылова составляет $3,9 \pm 0,1$ часа при рациональных температурах проведения процесса 40°C и 50°C для внутренних органов сырья весеннего и осеннего вылова соответственно и гидромодуле 1:1.

Также определено, что устойчивый консервирующий эффект наблюдается при внесении 0,4% сорбиновой кислоты к массе гидролизуемой смеси в течение 4 часов автолиза (отношение АЛО/ФТА не превышает 4,8-5,5%).

Изучение показателей качества ЖКПФ, полученных из внутренних органов промысловых рыб весеннего и осеннего вылова (табл. 3) показало, что они имеют сходные органолептические показатели, химический состав, обладают близкой протеолитической активностью, но выход жидкого комплекса протеолитических ферментов из внутренних органов рыб весеннего вылова выше на 6%, чем выход ЖКПФ из рыб осеннего вылова.

Таблица 3

Показатели качества, химический состав и протеолитическая активность ЖКПФ из внутренних органов промысловых рыб весеннего и осеннего вылова

Наименование показателя	ЖКПФ из внутренних органов	
	Весеннего вылова	Осеннего вылова
Внешний вид	Жидкость однородная	Жидкость однородная
Запах	Естественный свойственный рыбному сырью без порочащих признаков	Естественный свойственный рыбному сырью без порочащих признаков
Цвет	Буро-серый	Буро-серый
Выход ФП, %	61,8 ± 2,8	56,0 ± 2,1
ПА, ед/г	3,8 ± 1,2	3,1 ± 0,9
Содержание, %		
Воды	91,3 ± 0,4	89,8 ± 0,5
Белка	6,9 ± 0,3	7,2 ± 0,5
Жира	1,0 ± 0,2	1,8 ± 0,5
Минеральных веществ	0,8 ± 0,2	0,8 ± 0,5

Таким образом, установлены рациональные режимы автолиза внутренних органов промысловых рыб: температура 40°C (сырье весеннего вылова), 50°C (сырье осеннего вылова), рН 6,2 ± 0,3, продолжительность процесса 3,9 ± 0,1 часа при гидромодуле 1:1), режимы центрифугирования и сепарирования ЖКПФ (при частоте вращения ротора центрифуги и сепаратора 3500 об/мин в течение 25 мин) дают возможность получить ЖКПФ из внутренних органов промысловых рыб с близким химическим составом независимо от сезона вылова сырья.

В разделе «Обоснование технологических режимов получения рыбных автолизатов с использованием ЖКПФ» показано, что разработка рациональных режимов получения рыбных автолизатов из маломерного рыбного сырья осуществлялась при естественном значении рН сырья равном 6,3 ± 0,2. Т

Так как маломерное сырье осеннего и весеннего вылова обладает близкой протеолитической активностью, химическим составом (данные получены при статистической обработке разных соотношений рыб различного видового состава), но более низкой активностью, чем протеолитическая активность ферментных систем внутренних органов рыб (табл. 1), то для интенсификации активности ферментной системы маломерного рыбного сырья при установлении рационального гидромодуля процесс автолиза маломерного рыбного сырья был проведен при температуре 50°C.

Таблица 4

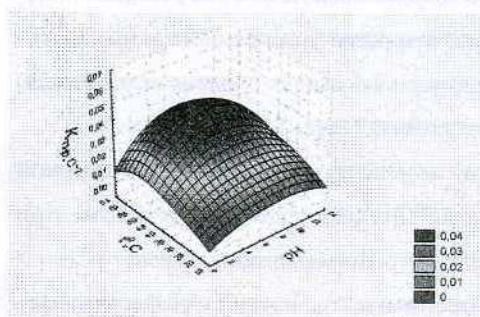
Изменение степени дезагрегации рыбного белка (НБА/ОА, %)* в различной реакционной среде при получении рыбных автолизатов из маломерного рыбного сырья

Продолжительность автолиза, час	Реакционная среда - вода				Реакционная среда - ЖКПФ			
	1:0,5	1:1	1:1,5	1:2	1:0,5	1:1	1:1,5	1:2
0	8,7	8,7	8,7	8,7	8,7	8,7	8,7	8,7
4	14,2	17,6	14,5	13,6	24,9	21,4	19,9	19,6
8	18,5	22,1	19,0	17,1	34,9	27,9	25,4	22,0
12	22,1	25,4	22,4	18,9	38,9	35,0	27,6	26,0
16	22,5	26,0	23,1	20,3	41,3	35,3	29,9	27,1
20	23,3	26,3	23,8	20,7	41,4	36,2	31,0	28,7
24	23,5	26,8	24,3	21,7	41,8	36,5	31,7	28,9

*в числителе небелковый азот, в знаменателе общий азот

Изучение влияния реакционной среды (воды и ЖКПФ) на процессы дезагрегации рыбного белка маломерного сырья при различном гидромодуле от 0,5 до 2,0 при температуре 50°C и продолжительности процесса 24 часа осуществлялось по динамике накоплению НБА и отношению НБА/ОА сырья, выраженному в процентах (табл. 4) показало интенсификацию процесса дезагрегации рыбного белка в 1,5 раза при соотношении «гидролизуемая смесь:ЖКПФ» равном 1:0,5, что позволяет сократить на продолжительность процесса автолиза маломерного сырья при получении рыбных автолизатов с использованием ЖКПФ на 12 часов.

Скорость процесса дезагрегации рыбного белка маломерного сырья в присутствии ЖКПФ также не оставалась постоянной в течение всей продолжительности процесса автолиза (рис.4), и находится в положительной динамике



увеличения при повышении температуры от 30°C до 50°C, достигая максимального значения при температурах 50-55°C (0,04 с⁻¹), но постепенно снижаясь при дальнейшей температуры (до 0,01 с⁻¹)

Рис. 4 - Изменение начальной скорости автопротеолиза маломерного сырья (Ктир, с⁻¹) при различной температуре и рН

pH среды также оказывает влияние на скорость автопротеолиза, которая достигает наибольшего значения при pH 8 ($0,04 \text{ с}^{-1}$). Снижение pH до естественного значения (pH $6,3 \pm 0,2$) уменьшает скорость процесса только на 12% и составляет $0,03 \text{ с}^{-1}$, что позволяет проводить автопротеолиз маломерного сырья при естественном значении pH $6,3 \pm 0,2$.

Таблица 5

Динамика накопления азотсодержащих веществ в автолизате из маломерного рыбного сырья в присутствии ЖКПФ при рациональной температуре (50°C) и гидромодуле процесса (1:0,5)

Продолжительность автолиза внутренних органов, час	Весенний вылов						Осенний вылов							
	Содержание сухих веществ, %	Содержание азотсодержащих веществ в автолизате						Выход ОА в автолизате, в % от содержания	Содержание сухих веществ, %	Содержание азотсодержащих веществ в автолизате				Выход ОА в автолизате, в % от содержания
		АЛЮ, г/100 гр.	НБА		ФТА		АЛЮ, г/100 гр.			НБА		ФТА		
			г/100 гр	% к ОА	г/100 гр	% к ОА				г/100 гр	% к ОА	г/100 гр	% к ОА	
2	4,5	8,7	542,4	62,1	196,6	17,2	33,1	5,3	7,9	545,3	64,6	135,2	18,2	31,9
4	6,8	10,8	698,7	71,6	307,9	31,6	34,5	7,2	9,3	642,9	64,7	248,7	25,0	39,6
6	8,9	16,7	726,9	56,5	361,2	49,7	44,4	8,5	16,9	662,2	51,0	366,5	28,2	48,1
8	9,2	17,9	729,3	56,6	362,8	49,7	48,9	9,6	18,2	707,7	54,4	370,9	28,5	50,3
10	9,4	18,1	751,2	58,4	366,4	28,3	49,4	9,9	18,9	721,5	54,9	372,1	28,4	50,4
12	9,8	18,2	792,6	60,8	369,6	28,3	49,7	10,4	19,1	722,4	54,2	376,3	28,2	50,5

При рассмотрении процентного выхода НБА/ОА и ФТА/ОА в гидролизуемой смеси из маломерного рыбного сырья с использованием ЖКПФ (табл. 5) различного периода вылова нами установлено, что интенсивность накопления продуктов распада белка в автолизате непостоянна и зависит от продолжительности процесса.

Наиболее интенсивно изменяется отношение НБА/ОА и ФТА/ОА в течение 6 часов автолиза и достигает соответственно 56,5% и 49,7% в автолизате из маломерного рыбного сырья весеннего вылова, и 51,0% и 28,2% в автолизате из маломерного рыбного сырья осеннего вылова, постепенно уменьшаясь и достигает 60,8% и 28,3% в автолизате из маломерного рыбного сырья весеннего вылова, и 54,2% и 28,2% в автолизате из маломерного рыбного сырья осеннего вылова. Поэтому продолжительность автолиза неразделанного маломерного сырья в присутствии ЖКПФ составляет 6 часов.

Таким образом, разработанные нами технологические решения получения автолизатов из маломерного сырья в присутствии ЖКПФ позволяют получать автолизаты с близкими показателями независимо от периода вылова маломерного сырья.

Определение дозы вносимого консерванта в гидролизуемую смесь также проводилось по изучению изменения АЛО/ФТА, выраженному в %, которое показало, что при внесении 0,4% сорбиновой кислоты к массе гидролизуемой смеси наблюдается устойчивый консервирующий эффект (отношение АЛО/ФТА не превышает 5,9-6,7%) в течение 6 часов автопротеолиза, что позволяет рекомендовать данное количество сорбиновой кислоты для консервирования.

В разделе «*Моделирование и оптимизация процесса автолиза маломерного рыбного сырья*» получена математическая модель и установлены оптимальные параметры процесса автолиза маломерного сырья в присутствии ЖКПФ. Параметром оптимизации математической модели была выбрана совокупная безразмерная характеристика J , объединяющая два частных отклика – протеолитическая активность ЖКПФ и глубина гидролиза (табл. 6).

Таблица 6

План эксперимента и результаты его реализации по моделированию и оптимизации технологии получения рыбного автолизата с использованием ЖКПФ

№ эксперимента	План эксперимента		Частные отклики		Обобщенный параметр оптимизации, J
	Продолжительность ферментации (τ), ч	Количество вносимого ЖКПФ (f) %	ПА ЖКПФ, ед/г	Степень расщепления белка (Γ), %	
1	3,0	50,0	1,89	21,48	0,383
2	5,0	50,0	2,05	33,51	0,400
3	3,0	100,0	2,18	22,85	0,361
4	5,0	100,0	2,02	31,45	0,374
5	3,0	150,0	2,28	25,25	0,405
6	5,0	150,0	2,34	38,12	0,410
7	4,0	50,0	2,10	32,98	0,398
8	4,0	100,0	1,98	30,98	0,345
9	4,0	150,0	2,31	36,78	0,419

Примечание: «идеалы» частных безразмерных откликов, принятые по результатам испытаний: ПА ЖКПФ = 2,5 ед/г; степень расщепления белка = 35%

Реализация плана эксперимента и обработка полученных данных позволила рассчитать уравнение (1), адекватно описывающее обобщенный параметр опти-

мизации с изменяемыми факторами, которое позволяет получить автолизат с определенной степенью дезагрегации белка:

$$y = 7,8928 * \tau + 9,5395 * f - 5,908 * \tau^2 - 0,2292 * \tau * f - 1,125 * f^2 + 24,6205, \% \quad (1)$$

Графическая интерпретация полученной модели процесса автопротеолиза из неразделанного маломерного сырья с использованием ЖКПФ представлена на рис.5.

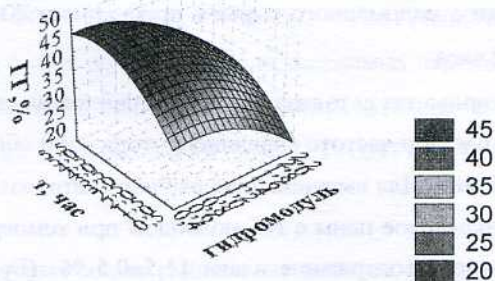


Рис. 5– Графическая интерпретация полученной модели процесса автолиза рыбного сырья с использованием ЖКПФ

Оптимальные значения факторов, установленные методом математического дифференцирования, представлены в виде координат точек экстремума: продолжительность процесса автолиза 4,25 ч; количество вносимого ЖКПФ (ПА=2,0±0,1ед/гр.)50%к массе смеси.

Анализ результатов исследований, полученных при постановке многократных экспериментов при данных оптимальных технологических решениях, позволил уточнить варьирование рациональных значений процесса: продолжительность автолиза с использованием ЖКПФ – от 3,5 до 4 часов при поддержании в системе соотношения «гидролизуемая смесь:ЖКПФ» равное 1:0,5.

В разделе «Молекулярно-массовое распределение азотсодержащих фракций рыбных автолизатов с использованием ЖКПФ» установлено, что рыбные автолизаты из маломерного рыбного сырья, полученные с использованием ЖКПФ, глю-

бина дезагрегации белка которых составляет $9,6 \pm 1,2\%$, содержат низкомолекулярные белковые фракции с М.м 25-35 кДа от 48,3 до 38,8%; олигопептидов (М.м. 4,5-6,5 кДа) – от 9,8 до 10,5 %; пептидов (М.м. 1,8-3,7 кДа) – от 2,3 до 5,2 %, и способны оказать положительное влияние на физиологическое состояние сельскохозяйственных птиц, т.к. имеют низкую степень расщепления белка и незначительное содержание белка М.м. от 1,0 до 5,0 кДа, обуславливающую горечь гидролизатов.

В соответствии с полученным молекулярно-массовым распределением азотсодержащих фракций рыбных автолизатов с использованием ЖКПФ продолжительность автолиза маломерного сырья в присутствии ЖКПФ может быть сокращена до $2,2 \pm 0,2$ часа.

Для обезжиривания автолизатов рекомендуется их сепарирование на сепараторе марки ОС-6М при частоте вращения ротора 3500 об/мин и продолжительности процесса 25 мин. Для высушивания рыбного автолизата применялась вакуумная сушка в тонком слое пены с ИК-подводом при температуре воздуха не выше 50°C до остаточного содержания влаги $11,5 \pm 0,5\%$ (Буйнов, 1990; Александян, 1997; Бигжи, 2001; Пат РФ № 2112184).

В главе 4 «**Изучение показателей качества кормовых автолизатов, полученных с использованием ЖКПФ**» представлена характеристика показателей качества рыбных автолизатов **РГ-40-О; РГ-50-О; РГ-40-Н; РГ-50-Н**.

Выход сухих рыбных автолизатов варьировали от $28,5 \pm 1,4\%$ (РГ-40-О, РГ-40-Н, РГ-50-Н) до $24,5 \pm 1,3\%$ (РГ-50-О) и обусловлен, на наш взгляд, химическим составом используемых для получения ЖКПФ внутренних органов промысловых рыб, маломерного рыбного сырья (табл.1) и температурными параметрами проведения процесса автолиза, при реализации которых наблюдалось максимальное извлечение жира из гидролизуемой смеси при сепарировании автолизатов.

Результаты исследования химического состава рыбных автолизатов с использованием ЖКПФ (табл. 7) показали, что они отличаются повышенным содержанием белка, варьирующим от 67,6 до 69,3%. Невысокое содержание жира в продуктах автопротеолиза, варьирующее от 6,0 до 7,3%, позволяет не использовать антиокислители при хранении автолизатов.

Таблица 7

Химический состав рыбных автолизатов из маломерного рыбного сырья, полученных с использованием ЖКПФ

Наименование автолизатов	Содержание, %				Критериальные показатели качества белковых продуктов		
	Воды	Сырого протеина	Мин. в-в	Сырого жира	БВК, %	БЭВ, %	ВЭ, ккал
РГ-40-Н	12,1±0,2	68,2±0,7	14,3±0,1	6,0±0,05	5,57	27,5±0,02	562,95±2,5
РГ-40-О	11,0±0,1	69,3±0,6	12,7±0,3	7,3±0,06	5,77	24,1±0,01	565,58±3,2
РГ-50-Н	12,2±0,3	67,6±0,7	13,9±0,2	6,1±0,07	5,67	28,0±0,03	557,45±1,9
РГ-50-О	10,9±0,2	69,3±0,5	12,2±0,1	7,2±0,05	5,83	23,4±0,02	567,39±3,0

Для оценки качества гидролизованного белка был определен количественный состав аминокислот в РГ-50-О, РГ-50-Н, РГ-40-О, РГ-40-Н (табл. 8), который показал, что они включают в себя полный набор незаменимых аминокислот. В дальнейших исследованиях нами был использован рыбный автолизат с максимальным содержанием незаменимых аминокислот РГ-50-О (**РГ-ОПТИМА**), составляющим 79,9 г/100г белка.

Таблица 8

Аминокислотный состав рыбных автолизатов, г/100 гр белка

Наименование аминокислоты	РГ-50-О	РГ-50-Н	РГ-40-О	РГ-40-Н
Аргинин	4,624	4,136	4,430	4,333
Лизин (н)	7,952	7,177	6,158	6,169
Тирозин	4,055	4,427	4,309	4,869
Фенилаланин (н)	1,996	1,962	1,947	1,994
Гистидин	5,197	5,087	5,399	5,493
Лейцин (н)	4,656	4,007	3,431	3,387
Метионин (н)	2,626	2,926	3,430	2,193
Валин (н)	7,091	7,065	6,752	6,566
Пролин	5,490	5,213	4,908	5,069
Треонин (н)	6,832	6,598	6,628	6,369
Триптофан (н)	2,895	2,768	2,234	2,267
Серин	1,497	1,458	1,407	1,492
Аланин	6,737	6,656	6,685	6,918
Глицин	4,350	4,869	4,667	4,628
Глютамин	2,495	2,535	2,674	2,764
Аспаргиновая кислота	7,673	6,357	6,764	6,297
Цистин	2,614	2,550	2,373	2,549
Изолейцин (н)	1,120	1,087	0,985	0,967
Сумма НАК	35,168	33,59	31,565	29,912
Сумма заменимых аминокислот	44,732	44,375	43,616	44,412
Сумма	79,9	77,965	75,181	74,324

Изучение жирно-кислотного состава РГ-ОПТИМА показало, что в нем превалирует содержание мононенасыщенных жирных кислот - 42,49%, практически в 1,4 раза ниже содержание насыщенные жирные кислоты и полиненасыщенных жирных кислот, составляющих соответственно 29,24% и 28,27%. Сумма эссенциальных жирных кислот составляет 9,54%, что подтверждает биологическую ценность полученных автолизатов из маломерного сырья с использованием ЖКПФ.

Безопасность потребления полученных автолизатов в составе кормовых смесей подтверждена проведенными микробиологическими исследованиями, которые показали, что отклонений микробиологического пейзажа ЖКПФ и рыбных автолизатов, полученных с использованием ЖКПФ, от допустимых норм не наблюдалось (ОМЧ автолизатов не превышало $1 \cdot 10^5$ КОЕ/гр, ЖКПФ - $1 \cdot 10^4$ КОЕ/гр.), патогенные микроорганизмы не обнаружены, что позволяет использовать их в составе кормовых смесей.

Исследования токсикологической безопасности рыбных автолизатов методом биотестирования с использованием культуры одноклеточных микроорганизмов *Tetrahymena pyriformis* (Игнатъев, 1978) и определение общей интегральной токсичности на белых мышах (Метод рек., 2001) подтвердили возможность применения их в качестве белковой составляющей кормов для сельскохозяйственных животных и птиц.

При разработке условий хранения рыбных автолизатов нами рассматривались изменения качественных показателей жира автолизатов, которые показали, что через 12 месяцев хранения при температуре $20^\circ\text{C} \pm 2,0$, относительной влажности $70 \pm 5\%$ кислотное и перекисное числа составляли 20 мг КОН/г и 0,18% J_2 соответственно, что рекомендует хранить полученные автолизаты при данных условиях.

В пятой главе «**Практическое применение автолизатов в кормопроизводстве**» проведено моделирование рецептурного состава кормов для сельскохозяйственной птицы. Установлено, что использование полнорационного корма серии ПК -1-1 «Веселая несушка» для молодняка кур-несушек кросса «Хайсекс Коричневый» (Haisex Brown), полнорационных кормов серии «Сытый бройлер» ПК-5-1,

ПК-5-2, ПК-6-1 для бройлеров кросса «Иза» (Isa) способствует увеличению живой массы птицы на 18%, яйценоскости - на 8%.

В шестой главе «Экономическая эффективность технологии кормовых рыбных автолизатов с использованием ЖКПФ» представлена технологическая схема получения рыбных автолизатов из маломерного рыбного сырья с использованием жидкого комплекса протеолитических ферментов (рис. 6) и ее описание.

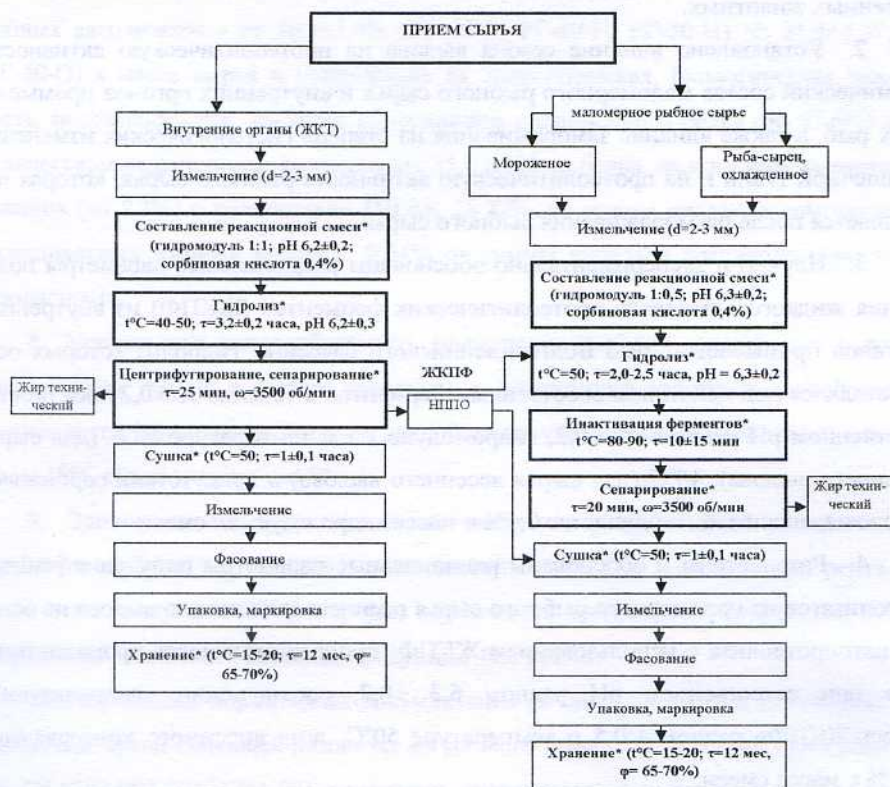


Рис. 6 – Технологическая схема получения рыбного автолизата из маломерного рыбного сырья с использованием ЖКПФ

Прибыль от внедрения технологии кормового рыбного автолизата с использованием ЖКПФ при объеме выпуска 111,8 т/год составляет более 600 тыс.руб/год при себестоимости единицы продукции 40,6 руб/кг, рентабельность продукции 18% и срок окупаемости производства в 2,5 года.

Выводы

1. Разработана безотходная и ресурсосберегающая технология рыбных автолизатов из маломерного рыбного сырья с использованием жидкого комплекса протеолитических ферментов из внутренних органов промысловых рыб Волго-Каспийского бассейна, позволяющая получить кормовой продукт повышенной биологической ценности и биодоступности для кормления птиц и сельскохозяйственных животных.

2. Установлено влияние сезона вылова на протеолитическую активность, химический состав маломерного рыбного сырья и внутренних органов промысловых рыб, а также влияние замораживания на степень гистологических изменений мышечной ткани и на протеолитическую активность рыбного сырья, которая повышается после размораживания рыбного сырья.

3. Научно и экспериментально обоснованы рациональные параметры получения жидкого комплекса протеолитических ферментов (ЖКПФ) из внутренних органов промысловых рыб Волго-Каспийского бассейна, гидролиз которых осуществлялся под действием собственных ферментов в течение $3,2 \pm 0,2$ часа при естественном рН равном $6,2 \pm 0,2$, гидромодуле 1:1 и температуре 50°C (для сырья осеннего вылова), 40°C (для сырья весеннего вылова) в присутствии сорбиновой кислоты, вносимой в количестве 0,4% к массе гидролизуемой смеси.

4. Разработаны и обоснованы рациональные параметры получения рыбных автолизатов из маломерного рыбного сырья осеннего и весеннего вылова на основе автопротеолиза с использованием ЖКПФ: продолжительность процесса 6 часов при естественном рН равном $6,3 \pm 0,2$, соотношении «гидролизуемая смесь:ЖКПФ» равном 1:0,5 и температуре 50°C , доза вносимого консерванта - 0,4% к массе смеси.

5. Оптимизированы методом математического дифференцирования параметры основного технологического процесса - автолиза маломерного рыбного сырья ферментным комплексом из внутренних органов рыб с определенной протеолитической активностью, рациональные значения параметров которого составили: продолжительность автолиза 4,25 ч; количество вносимого ЖКПФ (ПА= $2,0 \pm 0,1$ ед/гр.) - 50% к массе смеси.

6. Изучена зависимость молекулярно-массового (М.м) распределения азотсодержащих фракций автолизатов с использованием ЖКПФ от степени дезагрегации рыбного белка и обосновано использование кормовых автолизатов с глубиной гидролиза $9,6 \pm 1,2\%$ на кормовые цели.

7. Нарботаны партии жидкого комплекса протеолитических ферментов и рыбных автолизатов, выход которых составил для ЖКПФ 94,0-94,2 % и сухих рыбных автолизатов - от $28,5 \pm 1,4\%$ (РГ-40-О, РГ-40-Н, РГ-50-Н) до $24,5 \pm 1,3\%$ (РГ-50-О) к массе сырья и установлена их энергетическая, биологическая ценность, подтвержденная высоким содержанием полноценного белка (до 67,6%) с количеством незаменимых аминокислот 35,2 г/100 гр.белка, низким содержанием липидов (до 7,3%) с количеством ПНЖК 28,27%, от суммы кислот, в том числе эссенциальных жирных кислот – 9,54% от суммы кислот и токсикологическая безопасность.

8. Установлена целесообразность применения рыбных автолизатов с использованием ЖКПФ в составе рецептурных композиций кормовых смесей для птицеводства, применение которых способствует увеличению живой массы птицы на 18%, яйценоскости - на 8%.

9. Экономическая эффективность от внедрения разработанной технологии получения рыбных автолизатов с использованием ЖКПФ подтверждена рентабельностью продукции (18%) и сроком окупаемости производства автолизатов 2,5 года при себестоимости единицы продукции 40,6 руб/кг.

10. Разработана нормативная документация на опытные партии полученных продуктов: сухой белковый автолизат из рыбного сырья (ТУ 9283-001-00471704-09, ТИ 9283-002-00471704-09) и комплекс протеолитических ферментов из внутренних органов промыслового рыбного сырья, сухой (СКПФ) (ТУ 9291-003-00471704-09 и ТИ 9291-004-00471704-09).

Список публикаций по теме диссертации

1. *Костюрина К.В.*, М.Е. Цибизова Изучение ферментативной кинетики протеинсодержащего сырья как основополагающего биотехнологического процесса при получении новых продуктов //Вестник АГТУ.-2007-№3 (38).- С.125-129.

2. Цибизова М.Е., *Костюрина К.В.* Рыбные гидролизаты как один из компонентов полноценных кормов для птицеводства //Вестник АГТУ.-2006-№3 (32).- С.243-249.

3. Цибилова М.Е., Мижуева С.А., *Костюрина К.В.* Критерии оптимизации биотехнологических процессов получения гидролизатов из гидробιονтов //Известия вузов. Пищевая технология - 2009 - № 4 (310) – С.74-77

4. Цибилова М.Е., *Костюрина К.В.*, Аверьянова Н.Д. Ферментативная обработка рыбного сырья как один из способов увеличения выхода белковых продуктов //Известия вузов. Пищевая технология - 2010 - № 1 (313) – С.17-20

5. *Костюрина К.В.* Цибилова М.Е. Изучение молекулярно-массового состава гидролизата как один из способов получения биологически безопасных продуктов питания //Материалы IV МНМК «Живые системы и биологическая безопасность населения» ст-тов и молодых ученых – М.: МГУПБ, 2005. – С.26-28

6. *Костюрина К.В.*, Цибилова М.Е. Ресурсосберегающие технологии переработки вторичного сырья как основной этап создания кормовой базы для АПК Астраханской области //Материалы ВНК «Инновационные технологии в управлении, образовании, промышленности»- Астрахань, 2007 – С.228-231

7. *Костюрина К.В.*, Цибилова М.Е. Некоторые аспекты совершенствования биотехнологии получения гидролизатов из сырья Волго-Каспийского бассейна //Международный симпозиум «Тепловодная аквакультура и биологическая продуктивность водоемов аридного климата», Астрахань, 2007 – С. 186-189

8. *Костюрина К.В.*, Никитин Э.В., Цибилова М.Е. Возможные пути рационального использования нетрадиционных объектов промысла (густеры и синца) в зависимости от их технологических свойств //Материалы МП

9. *Костюрина К.В.*, Цибилова М.Е. Использование биологических ресурсов маломерного и малоценного рыбного сырья в производстве продуктов

10. *Костюрина К.В.*, Цибилова М.Е. Технологии поликомпонентных кормов сырья Волго-Каспийского бассейна / Астрахань, Издательский дом «Астраханский

11. *Костюрина К.В.*, Цибилова М.Е. Гидролизаты в составе полнорационного корма для птицы /Вестник АГТУ. Серия

12. Цибилова М.Е., *Костюрина К.В.* Методы переработки нетрадиционных объектов промысла «Рыбное хозяйство». -2009-№ 2- С.

13. Патент № 2343710. МПК⁷ А 23/00. Способ получения гидролизата из рыбного сырья /К.В. *Костюрина*, М.

5/14-2