

Использование биопрепаратов

УДК 639.3.043.2

Биотехнологические подходы при использовании белков рапса и сои в кормах аквакультуры лососевых рыб

© 2016 С.В. КОНОНОВА^{1,*}, Т.А. МУРАНОВА^{2,3}, Д.В. ЗИНЧЕНКО^{2,3}, Н.А. БЕЛОВА², А.И. МИРОШНИКОВ^{2,3}

¹ФГБУН «Институт белка» Российской академии наук, Москва 119991

²Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, биотехнологический факультет, Москва 119991

³ФГБУН «Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова» Российской академии наук, Пушкинский филиал, Пушкино, Московская обл. 142290

*e-mail: sknon23@gmail.com

Резюме — Замена белка рыбной муки на белок из растительных источников в кормах для лососевых рыб, выращиваемых в аквакультуре, стала мировой тенденцией в связи с исчерпанием морских биоресурсов. Наиболее перспективными растительными источниками белка для этих целей являются рапс и соя, все более широко используемые в кормах для животноводства в виде шротов, белковых концентратов, изолятов и гидролизатов. Проблема наличия в них антипитательных веществ известна давно, но их влияние на лососевых рыб активно изучается только в последние два десятилетия, когда эти источники белка стали включать в рацион в качестве замены рыбной муки. Разработка отечественных кормов для аквакультуры с использованием белков рапса и сои требует внимательного рассмотрения проблем, возникающих при этом, и поиска биотехнологических путей их разрешения. Анализ этих проблем и путей их решения и был проведен в обзоре.

Ключевые слова: аквакультура, антипитательные вещества, корма, лососевые рыбы, рапсовый белок, соевый белок.

doi: 10.1016/0234-2758-2016-32-5-57-68

Biotechnological Approaches when using Proteins of Rapeseed and Soybeans in Feed for Salmonid Aquaculture

S.V. KONONOVA^{1,*}, T.A. MURANOVA^{2,3}, D.V. ZINCHENKO^{2,3}, N.A. BELOVA², and A.I. MIROSHNIKOV^{2,3}

¹The Institute of Protein Research, Russian Academy of Sciences, Moscow, 119991 Russia

²Faculty of Biotechnology, the Lomonosov Moscow State University, Moscow, 119991 Russia

³The Shemyakin-and-Ovchinnikov Institute for Bioorganic Chemistry, Russian Academy of Sciences, Pushchino Branch, Pushchino, Moskovskaya Oblast, 142290 Russia

*e-mail: sknon23@gmail.com

Abstract — The substitution of fish meal protein by plant-source proteins in feed for salmonid grown in aquaculture has become a current worldwide trend due to the sea bioresources exhaustion. Rape and soy are the most promising plant sources for this purpose; they are increasingly used in live-stock raising feeds in the forms of oilseed meals, protein concentrates, isolates and hydrolysates. The problem of the occurrence of anti-nutrients in them is well-known; however, the effect of those components on salmonids started to be intensely studied only two decades ago, after they were integrated in the ration as a fish meal substitution. The development of domestic aquaculture feeds using soybean and rapeseed proteins requires careful consideration of related problems and searching for biotechnological ways for these problems solution. The analysis of those problems and their solutions has been the purpose of the present review.

Key words: anti-nutritional substances, aquaculture, feed, rapeseed protein, salmonids, soybean protein.

Список сокращений: ММ — молекулярная масса; FDA (Food and Drug Administration) — Управление контроля пищевых продуктов и медикаментов США.

С 90-х годов прошлого века, когда были достигнуты пределы морского рыбного промысла по массовым видам рыб, в мире наблюдается постоянный рост доли аквакультуры в производстве рыбной продукции. В 2014 г., по данным Продовольственной и сельскохозяйственной организации Объединенных Наций (Food and Agriculture Organization of UN, FAO), объем рыбы, производимой в аквакультуре, впервые превысил добычу дикой рыбы. Одновременно с этим наблюдается рост мирового потребления рыбы, который превышает по темпам увеличение спроса на говядину, свинину и птицу. По оценкам аналитика FAO Жаклин Алдер (Jackline Alder), доля искусственно разводимой рыбы к 2030 г. увеличится до 58% от мирового производства рыбной продукции (<http://www.interfax.ru/business/460941>).

В нашей стране пик развития аквакультуры пришелся на 80-е годы XX в., однако к 1996 г. производство рыбы и других водных биоресурсов в России снизилось в 4 раза (<http://www.iarex.ru/articles/52352.html>).

В настоящее время ведущее место (более 80% годового производства) по разведению в аквакультуре занимают карповые виды рыб (<http://www.mcx.ru/documents/document/show/12208.77.htm>.); объем выращенной форели составляет около 20—25 тыс. т (<http://www.rusnevod.com/cgi-bin/mnev/start.cgi?info1=24876>). Мировым лидером по выращиванию лососевых является Норвегия, производящая около 1 млн т форели ежегодно.

Успех в разведении рыбы, особенно фарминговых плотоядных видов, зависит от качества белков в кормах. Традиционно использовавшаяся для их производства рыбная мука содержит не менее 60—72% белка [1]. Однако истощение мировых биоресурсов промысловых рыб и как следствие рост цен на рыбную муку вкпе с экологическими проблемами вынудили производителей искать альтернативные источники белка для кормов, чтобы поддержать устойчивое развитие аквакультуры в будущем [2—4].

В России для возобновления роста отрасли необходимы как собственная молодь рыб, так и собственные корма. В настоящее время импортные корма практически полностью вытеснили отечественные [5], а их доля в общей стоимости рыбоводства достигает 65% [6]. К 2010 г. в России была разработана рецептура кормов с использованием гидролизатов рыбной муки и морских гидробионтов в качестве альтернативы белку рыбной муки [7], однако ситуация с морскими биоресурсами продолжает ухудшаться и растительные источники белка становятся более востребованными.

Работы по изучению возможности включения растительных белков в виде шротов, белковых препаратов, а также гидролизатов белка в корма для рыб активизировались за рубежом с 90-х годов прошлого века. Разрабатывая собственную кормовую базу на основе растительных белков, полезно ознакомиться с проблемами, решаемыми в этой области зарубежными исследователями. Рассмотрению этих проблем и путей их решения посвящен настоящий обзор.

БЕЛКИ ДЛЯ КОРМОВ ЛОСОСЕВЫХ РЫБ

Наряду с атлантическим лососем в настоящее время в мире выращивают многие другие виды лососевых, например, радужную форель, чавычу и кижуча. Различные виды лососевых, как правило, кормят одними и теми же кормами [8], которые характеризуются высоким содержанием белка (до 50%). Метаболизм белков у этих рыб нуждается в непрерывной поставке аминокислот, однако только около 50% аминокислот белка кормов используются для белкового синтеза [9]. Лососевые, будучи плотоядными рыбами, используют часть пищевых белков для покрытия своих относительно высоких потребностей в энергии, катаболизируя аминокислоты [10], чем и объясняется их высокая потребность в белке.

Для мировой аквакультуры проблемой остаются показатели выживаемости личинок рыб (которые часто низки или сильно варьируют) и потенциал их роста, а также проблемы с формированием скелета. По крайней мере, часть этих проблем является следствием неоптимального питания. Наличие в кормах достаточного количества белков со сбалансированным аминокислотным профилем имеет важное значение для эффективного белкового синтеза и роста рыб [11]. Снижение потребления корма и его усвояемости может изменить аминокислотный профиль в тканях организма, что негативно влияет на метаболизм и здоровье, отложение липидов и прирост мышечной массы у выращиваемых рыб [12], а также провоцирует дефекты скелета [13]. В настоящее время исследование эффекта аминокислотного состава кормов на белковый метаболизм и факторов, влияющих на этот эффект, рассматривается как ключевое научное направление при оценке результатов замены рыбной муки в кормах на растительные источники белка.

Поиск альтернативы белку рыбной муки показал, что наибольший интерес представляют растительные белки рапса [14] и сои [15] благодаря их широкой доступности, относительно высо-

Сравнение аминокислотного состава белков рыбной муки, сои и рапса (рапс/канола)
Comparison of aminoacid compositions of fish meals, soybean and rape (rape/canola)

Аминокислота Amino acid	Содержание аминокислоты, г на 100 г белка Content of amino acid, g per 100 g protein		
	Белок рыбной муки [16] Fishmeal protein	Соевый белок [17] Soybean protein	Белок рапса/канолы [17] Rape/canola protein
Ala	6,41	4,3	4,3
Arg	5,84	7,2	5,8
Asx (Asp+Asn)	8,29	11,7	7,0
Cys	0,80	1,6	1,7
Glx (Glu+Gln)	12,47	18,7	17,5
Gly	8,13	4,2	4,9
His	2,00	2,6	2,7
Ile	3,63	4,5	4,0
Leu	6,46	7,8	7,0
Lys	6,55	6,4	5,8
Met	2,37	1,3	1,9
Phe	3,52	5,0	3,8
Pro	4,69	5,1	6,0
Ser	4,06	5,0	1,7
Thr	3,90	4,5	4,0
Trp	0,84	1,3	1,3
Tyr	2,62	3,2	3,1
Val	4,45	4,8	5,0

кому содержанию и сбалансированному профилю их аминокислот (табл. 1), а также относительно низкой стоимости соевых и рапсовых шротов, которые почти в пять раз дешевле рыбной муки.

В то же время, давно известно, что рапсовые и соевые шроты как источники белка для животноводства могут оказывать негативное влияние на организм животных из-за содержащихся в них антипитательных веществ (соединений, снижающих переваривание и адсорбцию пищевых компонентов). Использование белков рапса и сои в кормах для лососевых рыб началось сравнительно недавно. Первые же попытки замены белка

из рыбной муки растительным белком в кормах для рыб показали, что последствия этих замен намного более сложны, чем изначально представлялось. У многих видов рыб, включая лососевых, снижается прирост белка, причем тем больше, чем больше содержание в диете растительных белков [18,19]. Среди видов лососевых, представляющих коммерческий интерес, радужная форель *Oncorhynchus mykiss* более терпима к включениям соевого шрота в корма, тогда как у атлантического лосося *Salmo salar* в ответ на такой рацион наблюдается значительное угнетение усвоения и потребления корма, а следовательно, и роста (на

10—30%), а также снижается усвояемость липидов [20]. Однако перевод радужной форели на корм, содержащий соевый белковый концентрат со сравнительно низкой концентрацией антипитательных веществ, приводит к темпам роста рыбы, сопоставимым с скоростью роста при использовании корма на основе рыбной муки [21]. Прямая концентрационная зависимость от содержания антипитательных веществ прослеживалась при включении рапсовых белковых концентратов в корм радужной форели [22]. Мета-анализ исследований влияния замены рыбной муки на белки из сои, рапса и гороха в виде шротов и белковых концентратов в кормах для лососевых, проведенный S.A. Collins с соавт. [18], показал, что только в четверти работ были продемонстрированы положительные результаты по показателям скорости роста рыб и усвоения кормов по сравнению с контрольными группами.

В целом негативные эффекты, наблюдаемые в различных экспериментах по введению растительных белков в корма, состояли в снижении их вкусовой привлекательности, менее эффективном использовании питательных веществ, торможении роста рыб, панкреатической гипертрофии, гипогликемии или повреждении печени, образовании зоба, а также дисфункции кишечника, изменениях в кишечной микрофлоре и иммуномодуляции [23—25], проявляющихся в виде неинфекционного подострого энтерита, диареи и неоплазии. В зависимости от вида рыб, возраста, размера, пола, состояния здоровья и плана питания, а также стрессовых факторов эти эффекты могут варьировать. Кроме того, возможен целый ряд отдаленных последствий для здоровья не только разводимых рыб, но и людей, употребляющих их в пищу [26, 27]. Это делает актуальным усовершенствование имеющихся технологий, снижающих содержание антипитательных веществ при производстве растительного белка для рыбных кормов.

СОЕВЫЕ БЕЛКОВЫЕ ПРЕПАРАТЫ

Соя является одной из наиболее важных сельскохозяйственных культур, занимая четвертое место в мировом производстве основных зерновых и масличных растений. Главные ее производители — Аргентина, Китай, США и Бразилия. В России в последние годы также происходит устойчивый рост производства культуры. Соевые бобы имеют высокое содержание белка (около 31—48%) и жиров (12—24%). Соевый шрот является основным побочным продуктом, образу-

ющимся в ходе производственного процесса получения соевого масла; содержание белка в нем может варьировать от 40 до более чем 60%, а углеводов, в том числе пищевых волокон, от 30 до 38 % [28, 29]. Он широко используется как источник белка в кормах, а также для промышленного получения пищевых и кормовых белковых концентратов (содержание белка 60—70%) и изолятов (содержание белка около 90%) (табл. 2). Все эти источники соевого белка могут быть использованы для получения белковых гидролизатов.

Белок соевых бобов усваивается организмом животных на 80—95%, содержит все незаменимые аминокислоты и сбалансирован по важным серусодержащим аминокислотам. Композиционный состав соевых бобов и изготовленных из них одним и тем же методом шротов может варьировать [30], в том числе и по количеству незаменимых аминокислот. Это определяется не только генотипом сои, но и эколого-географическими факторами при выращивании этой культуры.

Содержание водорастворимых белков (альбумины и псевдоглобулины) в белковых фракциях сои может достигать 68—78% [31]. Основная часть водорастворимых белков представлена глобулинами — β -конглицинином и глицинином. Их свойства подробно рассмотрены в обзоре [32]. Оставшаяся часть водорастворимых белков содержит минорный глобулин γ -конглицинин и относительно большое количество (до 9—15,3%) других белков, в том числе ингибиторов трипсина Кунитса.

Глицинин является гексамерным белком с ММ около 350 кДа, субъединицы которого могут образовывать полый цилиндр из двух гексагональных колец. При различных рН и ионной силе он диссоциирует с образованием нескольких структур, а при нагревании до 80° агрегирует.

β -конглицинин является трехмерным белком с ММ около 180 кДа и состоит из трех различных субъединиц. Он взаимодействует с водорастворимыми белками при нагревании, формируя сложные белковые частицы со специфическими свойствами поверхности.

РАПСОВЫЕ БЕЛКОВЫЕ ПРЕПАРАТЫ

Рапс является масличной культурой, чье производство и переработка в последнее десятилетие демонстрируют активный рост — на 65% с 2000 по 2011 г. (<http://faostat.fao.org>). Семена рапса содержат приблизительно 40—45% жиров, большое количество белков (35—40%) и углеводов (30—35%), а также пищевые волокна (10—15%),

Состав соевых бобов, шротов, белковых концентратов и изолятов [29]

Composition of soybeans, meal, protein concentrates, and isolates

Компонент Component	Бобы Soybeans	Шроты Meal	Концентраты Concentrates	Изоляты Isolates
Белок Protein	31—48	44—61	62—69	85—96
Жиры Fats	12—24	0,5—9,0	0,5—1,0	0,5—1,0
Углеводы и пищевые волокна Carbohydrates and fibers	33—44	32—38	17—25	0,3—0,6
Зола Ashes	4—5	6—7	3,8—6,2	2,5—6,3
Изофлавоны Isoflavones	0,1—0,4	0,2—0,3	0,02—0,3	0,1—0,3
Фитаты Phytates	1,4—2,3	1,3—4,1	1,3—2,2	1,0—1,7
Сапонины Saponins	0,2—0,3	0,7	0,4	0,8
Ингибиторы трипсина (% от общего белка) Trypsin inhibitors (% of total protein)	3,5—12,2	1,2—1,5	0,8—1,1	0,1—2,9
Влажность Moisture	7,7—10,1	3,5—11,4	4—6	4—6

минеральные вещества (5—10%) и вторичные метаболиты (до 10%) [17].

Из семян рапса после экстракции масла получают рапсовый шрот, который используют для производства белковых концентратов и изолятов (табл. 3).

Состав, свойства и особенности выделения рапсовых белков были рассмотрены в ряде работ [33—36]. Детально охарактеризованы только 3 основных белка: круциферин, напин и олеозин. Два первых определяют основные пищевые и функциональные свойства белков рапса и составляют в сумме около 80% от общего белка (круциферин — до 60% и напин — до 20—40%).

Круциферин (нейтральный глобулин) является гликопротеином с ММ 300 кДа, состоящим из более, чем 10 субъединиц с ММ в интервалах 29—37, 22—24 и 52—60 кДа. В нативной форме круциферин обладает гелеобразующими свойствами.

Напин — это водорастворимый высокоосновный альбумин, состоящий из двух полипептидов с ММ в диапазоне 12—14 кДа. Напины обладают способностью к пенообразованию.

Олеозины являются мембранными белками и связаны с жировыми телами. Это низкомолекулярные (15—26 кДа) основные белки, составляющие примерно 2—8% от общего белка семян рапса.

АНТИПИТАТЕЛЬНЫЕ ВЕЩЕСТВА СОИ И РАПСА И ИХ ВЛИЯНИЕ НА РЫБ

Шроты сои и рапса содержат антипитательные вещества, которые могут частично оставаться в продуктах дальнейшей переработки шротов для получения белковых препаратов. Влияние антипитательных веществ на пищеварение и здоровье рыб было подробно рассмотрено в обзорах [23] и [37].

Состав шрота и белковых изолятов рапса, % от сухого вещества [34]**Composition of rape meals and protein isolates, % of dry material**

Компонент Component	Шрот Meals	Изоляты Isolates	
		Альбумин-содержащий Albumin-containing	Глобулин-содержащий Globulin-containing
Белок Protein	41,4	90,8	91,4
Жиры Oil	3,2	7,0	6,6
Зола Ashes	7,6	1,8	0,8
Общие полифенолы Total polyphenols	1,3	0,25	0,2
Таннины Tannins	0,1	0,0	0,05
Фитиновая кислота Phytic acid	1,2	0,0	0,0
Углеводы и пищевые волокна Carbohydrates and dietary fibers	45,3	0,1	1,0

К антипитательным веществам сои относятся ингибиторы протеаз, лектины, фитиновая кислота, сапонины, фитоэстрогены и аллергены. В рапсе они в основном представлены ингибиторами протеаз, глюкозинолатами, фитиновой и синяпиновой кислотами и таннинами. В результате проведенной селекции растений рапса эруковая кислота, присутствие которой ранее представляло проблему, в настоящее время в шротах практически отсутствует. Далее рассмотрим свойства некоторых из приведенных выше компонентов.

Ингибиторы протеаз. В сое и рапсе представлены ингибиторы протеаз Баумана—Бирка и Кунитца. Их специфичность значительно различается; они ингибируют не только трипсин и химо tripsин, но и эластазу и ряд других сериновых протеаз. Ингибитор Кунитца термолабилен, а ингибитор Баумана—Бирка термостоек, поэтому последний не инактивируется полностью при температурной обработке в процессе получения шротов. Как правило, коммерческие соевые шроты сохраняют некоторую ингибирующую активность протеазы. В отличие от большинства видов рыб у лососевых отмечается особо сильное влия-

ние ингибиторов протеаз, в частности соевых, на процесс пищеварения; при этом наблюдается снижение усвоения белков и липидов в результате подавления активности пищеварительных ферментов трипсина и химо tripsина. При низких концентрациях ингибиторов протеаз в корме и их краткосрочном воздействии (кормление в течение 12 дней) в поджелудочной железе возможны компенсаторный синтез и секреция пищеварительных ферментов. При более длительном сроке кормления рыб таким кормом или при более высокой концентрации ингибиторов в корме компенсация активности пищеварительных ферментов за счет увеличения их синтеза и секреции не происходила [23].

Фитиновая кислота (гексафосфат миоинозита). Полифенолы и фитаты (соли фитиновой кислоты) могут модифицировать белки и ингибируют протеазы, в том числе при получении белковых гидролизатов. Во время обработки шротов между белками и фитатами могут образовываться нерастворимые комплексы, снижающие скорость гидролиза белков. Например, в присутствии 1 мг/мл фитата в гидролизуемой смеси снижение скоро-

сти гидролиза соевого глицинина составляло 43%. Фитаты могут связывать ионы двух- и трехвалентных металлов, такие как Ca^{2+} , Mg^{2+} , Zn^{2+} , Cu^{2+} и Fe^{3+} , в результате чего эти ионы становятся недоступными для усвоения. Содержание фитатов в бобах сои составляет 1—2%, и в семенах рапса 1—6%. Снижение биодоступности кальция, магния и цинка приводит к развитию у рыб аномалий в морфологии щитовидной железы, почек и кишечника; особенно сильно повреждаются пилорические придатки. Хелатирующий эффект фитатов провоцировал развитие катаракты у молодых чавычи [35]. Замена в корме для мальков радужной форели свыше 50% рыбной муки рапсовым альбумин-содержащим изолятом, с которым в основном ассоциированы фитаты, приводила к снижению выживаемости этих мальков [38].

Олигосахариды могут изменять микробиоту желудочно-кишечного тракта и повышать осмотическое давление в кишечнике, если они не метаболизируются микроорганизмами. Влияние микробиоты на здоровье рыб еще плохо изучено, но уже сегодня ясно, что провоцируемый олигосахаридами дисбиоз может иметь долговременные последствия для иммунной системы, нарушать метаболизм и приводить к развитию ряда заболеваний [39,23].

Лектины (фитогемагглютинины) сои способны обратимо и специфически связывать углеводную составляющую гликоконъюгатов, присутствующих на мембранах эпителиальных клеток кишечника. Являясь белками, лектины, тем не менее, частично устойчивы к протеолитической деградации в кишечнике. Лектины вызывают нарушение метаболизма кишечника и морфологическое повреждение ворсинок. Показано, что лектины способны связываться с углеводными компонентами гликоконъюгатов тканей как проксимальной, так и дистальной части кишечника атлантического лосося, причем в последней их взаимодействие с клетками особенно сильно. Аналогичные результаты были получены и на радужной форели. Полагают, что гистологические изменения кишечника, наблюдаемые при диете, содержащей соевые продукты, в основном являются результатом комплексного действия изофлавонов, олигосахаридов, фитатов и лектинов [39, 23].

Фитоэстрогены сои — это изофлавоны генистеин, дайдзеин и глицитеин. Они термостабильны и могут нарушать функцию щитовидной железы, поскольку подавляют усвоение йода. Даже обогащение диеты йодом не компенсирует негативное действие изофлавонов на организм рыб [23].

Сапонины. Соевые бобы обычно содержат сапонины в диапазоне 1—5 г/кг и их уровень в сое, как правило, выше, чем в других обычных кормах. Сапонины являются амфифильными молекулами, содержащими гидрофобный стероидный или тритерпеновый агликон, к которому присоединены одна или несколько гидрофильных углеводных цепей. Углеводная часть сапонинов значительно варьирует по составу и может включать глюкозу, галактозу, глюкуроновую кислоту, ксилозу или рамнозу. Сапонины образуют мицеллы и могут встраиваться в холестеринсодержащие мембраны, образуя в них отверстия. Они влияют на функции кишечного эпителия, увеличивая проницаемость клеток слизистой оболочки, ингибируя активный транспорт и облегчая проникновение веществ, которые обычно не поглощаются слизистой кишечника. Как следует из ряда исследований, в комплексе с другими антипитательными веществами сои сапонины являются основной причиной энтеритов рыб [23, 41, 42].

Глюкозинолаты. Хотя глюкозинолаты сами по себе нетоксичны, в процессе выделения рапсовых белков после распада клеток при действии фермента мирозиназы возможен ферментативный гидролиз глюкозинолатов с образованием токсичных соединений: изотиоцианата, нитрила и тиоцианата [43]. Содержание глюкозинолатов в рапсовых шротах часто бывает ниже 30 мкмоль/г, тем не менее, этого может быть достаточно, чтобы образующиеся из них токсины оказали негативный эффект на активность щитовидной железы рыб [37], уменьшая поглощение йода и провоцируя образование зоба. Присутствие глюкозинолатов в рапсовых глобулиновых изолятах при замене рыбной муки этими изолятами в пределах от 50 до 100% приводило к снижению выживаемости мальков радужной форели почти на 50%.

Фенольные кислоты и танины. В доступной литературе нам не удалось найти данных о влиянии танинов на лососевых рыб. Из фенольных соединений, находящихся в рапсовой шелухе, 73% приходится на синапиновую кислоту и ее производные синапины [44]. Последние под воздействием микроорганизмов могут превращаться в холин, а затем в триметиламин, резко ухудшающий вкусовые свойства кормов.

Побочные продукты температурной обработки. При температурной обработке шротов происходит снижение индекса растворимости азота на 18—70%, в зависимости от условий тостирования [37] и пищевой ценности белков, так как при этом образуются лизиналанин, лантионин, дегидроаланин, β -аминоаланин, пиразин и

гидроксиметилфурфурол. Например, в коммерческих соевых белковых изолятах содержание лизина варьировало от 0 до 370 мкг/г белка.

Модификация лизина в белках при взаимодействии с восстанавливающими сахарами делает недоступной для гидролиза пептидную связь, расщепляемую трипсином в процессе пищеварения [45].

Таким образом, использование в кормах для рыб растительных источников белка, содержащих антипитательные вещества, хотя и не приводит к смертности, но негативно влияет на рост, развитие и здоровье рыб. Трудно сделать однозначные выводы относительно пороговых уровней конкретных растительных метаболитов в диете рыб. Ориентировочно ингибиторы протеаз и фитаты в количестве, в котором они могут присутствовать в кормах для рыб, содержащих коммерчески доступные источники белка растительного происхождения, не оказывают значительно влияния на показатели роста рыбы. В противоположность этому, глюкозинолаты, сапонины, растворимые олиго- и полисахариды и изофлавоны более опасны в практике питания аквакультуры.

УДАЛЕНИЕ АНТИПИТАТЕЛЬНЫХ ВЕЩЕСТВ ПРИ ПРОИЗВОДСТВЕ КОРМОВЫХ БЕЛКОВ

Удаление антипитательных веществ (табл. 4) из рапсового и соевого сырья представляет большую проблему, поскольку возможные способы могут снижать выход и пищевую ценность белков.

Уровень ряда антипитательных веществ был снижен путем селекции и генетической модификации исходных растений (канола, выведенная разновидность рапса, имеет низкое содержание глюкозинолатов и эруковой кислоты [17]).

Одним из способов уменьшения содержания антипитательных веществ в готовом рапсовом и соевом сырье является температурная обработка, осуществляемая в процессе получения шротов. К термолабильным соединениям, входящим в состав сырья, относятся некоторые ингибиторы протеаз, фитаты, лектины и мирозиназа, в то время как термически стабильные соединения представлены сапонинами, олиго- и полисахаридами, эстрогенами и некоторыми фенольными соединениями. Лектины хорошо извлекаются не только водой, но и спиртом, для их инактивации достаточными являются также обработка пропионовой кислотой или, как уже упоминалось, термическая обработка при 80—100° в течение 15—25 мин. Экстракцией этанолом эффективно удаляются глюкозинолаты, фенольные соединения, раство-

римые сахара и некоторые олигосахариды [34], но при этом уменьшаются растворимость и выход некоторых белков [46]. Таким образом, иногда использование методов, удаляющих антипитательные вещества, сопряжено с потерей белка и снижением его пищевой ценности.

Фитаты также могут быть удалены из кормов с растительными источниками белка путем добавления фитазы. Этот прием хорошо известен при использовании растительных кормов в животноводстве и птицеводстве. Включение фитазы в корма с растительными белками, предназначенные для рыб, также позволило повысить их усвояемость и получить прирост массы, сопоставимый с приростом у рыб, питавшихся кормами на основе рыбной муки [47,48].

Можно ожидать, что в дальнейшем более широкое распространение в кормах для лососевых получат не соевые и рапсовые шроты, а белковые концентраты и изоляты из сои и рапса, поскольку были получены обнадеживающие результаты в экспериментах по включению белковых концентратов в соответствующие корма [19, 49, 50]. Но содержание этих концентратов в составе кормов должно ограничиваться 20—30%, так как технологический процесс их производства не позволяет полностью освободить их от антипитательных веществ [22, 51]. Тем не менее, большим плюсом концентратов соевых и рапсовых белков по сравнению со шротами является меньшее содержание олиго- и полисахаридов, вследствие чего они не оказывают такого сильного, как шроты, влияния на микробиоту кишечника лососевых [52]. Введение стадии обработки шротов гликозидгидролазами, такими, как целлюлаза, пектиназа, ксиланаза, также может способствовать повышению выхода белка и снижению в них уровня олиго- и полисахаридов [53].

В связи со специфическими особенностями личиночного пищеварения в сравнении с усвоением пищи молодой или взрослыми рыбами [7, 54—56] в последнее время получает все большее распространение включение в стартовые корма для личинок и мальков рыб белковых ферментативных гидролизатов, в том числе и соевых [57—59]. Белковые гидролизаты усиливают рост и/или выживаемость личинок и мальков у некоторых пресноводных и морских видов рыб [56], в том числе, у радужной форели [57] и атлантического лосося [58], а также предотвращают дефекты развития личинок. Возможность получения белковых ферментативных гидролизатов непосредственно из шротов, а не белковых изолятов, является большим технологическим преимущест-

Антипитательные вещества и процедуры, которые исключают или снижают их негативное влияние на пищевую ценность кормов [23]

Anti-nutrient compounds and procedures that prevent or minimize their negative effect on feed nutrient value

Антипитательное вещество Anti-nutrient compound	Источник Source	Тип обработки для снижения негативного эффекта Type of treatment for negative effect minimization
Ингибиторы протеаз Proteinase inhibitors	Бобовые Beans	Температурная обработка, добавление метионина Heating, methionine addition
Лектины Lectins	Семена всех растений Seeds of all plants	Температурная обработка, добавление углеводов Heating, carbohydrate addition
Фитиновая кислота Phytic acid	Все растения Seeds of all plants	Температурная обработка, минеральные добавки Heating, mineral additives
Таннины Tannins	Рапс	Удаление шелухи, ограниченная температурная обработка Removal of husks, limited heating
Сапонины Saponins	Бобовые Beans	Экстракции спиртом и смесью спирт — неполярный растворитель, добавление холестерина Ethanol and ethanol — nonpolar solvent mixture extraction, addition of cholesterol
Стерины Styrenes	То же	То же Ethanol and ethanol — nonpolar solvent mixture extraction, addition of cholesterol
Олигосахариды Oligosaccharides	»	Водно-спиртовая экстракция Water-ethanol extraction
Эстрогены Estrogens	Соя Soy	Экстракция смесью спирт/неполярный растворитель Ethanol — nonpolar solvent mixture extraction
Гойтрогены* Goitrogens*	Рапс Rape	Водно-спиртовая экстракция Water-ethanol extraction

* Природные вещества, которые могут стимулировать образование зоба.

* Natural compounds that can stimulate the goiter formation.

вом, поскольку позволяет исключить стадии выделения белка. При этом использование таких бактерий, как *Bacillus ssp*, *Aspergillus oryzae*, *Eurotium repens*, *Lactobacillus brevis*, позволяет снизить в гидролизатах содержание олигосахаридов. Однако не все получаемые при этом гидролизаты белков оказываются эффективной заменой белку рыбной муки [60, 61]. Подбор ферментных препаратов и штаммов бактерий, а также технологических схем с их использованием для получе-

ния гидролизатов шротов находится в стадии активной разработки.

Таким образом, в настоящее время рапсовые и соевые белки, включаемые в виде шротов, белковых концентратов и изолятов в корма для рыб, используются все более широко. Их рассматривают как дешевый источник для замены белка рыбной муки, однако присутствие в них антипитательных веществ требует совершенствования технологии их очистки, обеспечивающей максимальное сокра-

щение негативного влияния этих веществ на здоровье таких особо ценных пород рыб, как лососевые. Даже если предположить, что стоимость таких кормов будет сопоставима со стоимостью кормов на основе рыбной муки, тенденция к исчерпанию морских биоресурсов делает неизбежной их замену, в частности, растительными источниками белка, такими, как рапс и соя.

Благодарности

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проект № 16-14-00133).

Acknowledgements

The work was financially supported by the Russian Scientific Fund (Project 16-14-00133).

Поступила в редакцию 27.06.2016 Received June 27, 2016
Принята в печать 07.07.2016 Accepted July 07, 2016

ЛИТЕРАТУРА

- Miles R.D., and Chapman F.A. The benefits of fishmeal in aquaculture diets. Florida, IFAS Extension. FishSite. 2006.
- Bureau D.P. and Hua K. Towards effective nutritional management of waste outputs in aquaculture, with particular reference to salmonid aquaculture operations, *Aquacult. Res.* 2010, 41, 777—792.
- Hardy R.W. Utilization of plant proteins in fish diets: effects of global demand and supplies of fishmeal. *Aquacult. Res.* 2010, 41, 770—776.
- Naylor R.L., Hardy R.W., Bureau D.P., et al. Feeding aquaculture in an era of finite resources. *Proc. Nat. Acad. Sci.* 2009, 106, 15103—15110.
- Kal'chenko E.I. The experience of the use of various types of feed in salmon juvenile growing at hatcheries. *Issledovaniya Vodnykh Biologicheskikh Resursov Kamchatki i Severo-Zapadnoy Chasti Tikhogo Okeana (Investigations of Water Biological Resources of Kamchatka and North-West Pacific Ocean)*. 2009, (12), 72—79.
- Glubokovskii M.K. About combined fodder for fish in aquaculture in Russian Federation. http://fish.gov.ru/files/documents/otkrytoe_agentsvto/obshestvennyi_sovet/Glybokovskiy.pdf
- Ponomarev S.V., Gamygin E.A., and Kanidiev A.N. Physiological Principles in Creating of Full-Value Combined Fodder taking into account Stages of the Salmon and Sturgeon Development. *Vestnik AGTU. Ser. Rybnoye Khoziaistvo (J. AGTU. Ser. Fish Ind.)*. 2010, (1), 132—139.
- Cho C.Y. Feeding systems for rainbow trout and other salmonids with reference to current estimates of energy and protein requirements. *Aquaculture*. 1992, 100, P. 107—123.
- Houlihan D.F. McCarthy I.D., Carter C.G., et al. Protein turnover and amino acid flux in fish larvae. ICES Marine Science Symposia, Copenhagen, Denmark: Int. Council for the Exploration of the Sea, 1995, 201, 87—99.
- Kaushik S.J., and Seiliez I. Protein and amino acid nutrition and metabolism in fish: current knowledge and future needs. *Aquacult. Res.* 2010, 41, 322—332.
- El-Mowafi A., Ruohonen K., Hevrnyy E.M., et al. Impact of digestible energy levels at three different dietary amino acid levels on growth performance and protein accretion in Atlantic salmon. *Aquacult. Res.* 2010, 41, 373—384.
- Wu G. Amino acids: metabolism, functions, and nutrition. *Amino acids*. 2009, 37, 1—17.
- Boglione C., Gisbert E., Gavaia P., et al. Skeletal anomalies in reared European fish larvae and juveniles. Part 2: main typologies, occurrences and causative factors. *Rev. Aquacult.* 2013, 5, S121—S167.
- Enami H.R. A review of using canola/rapeseed meal in aquaculture feeding. *J. Fish. Aquat. Sci* 2011, 6, 22.
- Rumsey G.L. Fish meal and alternate sources of protein in fish feeds update 1993. *Fisheries*. 1993, 18, 14—19.
- Slawski H., Adem H., Tressel R.P., et al. Replacement of fish meal with rapeseed protein concentrate in diets fed to common carp (*Cyprinus carpio* L.). *Aquacult.* 2011, 63, 605—611.
- Shahidi F. Rapeseed and canola: global production and distribution: Canola and rapeseed: production, chemistry, nutrition, and processing technology (Ed. F.Shahidi), N.Y.: Springer Science & Business Media, 1990, P. 359.
- Collins S.A., Overland M., Skrede A., et al. Effect of plant protein sources on growth rate in salmonids: meta-analysis of dietary inclusion of soybean, pea and canola/rapeseed meals and protein concentrates. *Aquaculture*. 2013, 400, 85—100.
- Collins S.A., Desai A.R, Mansfield G.S., et al. The effect of increasing inclusion rates of soybean, pea and canola meals and their protein concentrates on the growth of rainbow trout: concepts in diet formulation and experimental design for ingredient evaluation. *Aquaculture*. 2012, 344, 90—99.
- Refstie S., Korsmøen O.J., Storebakken T., et al. Differing nutritional responses to dietary soybean meal in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Aquaculture*. 2000, 190, 49—63.
- Kaushik S.J., Cravedi J.P., Lalles J.P., et al. Partial or total replacement of fish meal by soybean protein on growth, protein utilization, potential estrogenic or antigenic effects, cholesterolemia and flesh quality in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Aquaculture*. 1995, 133, 257—274.
- Slawski H., Adem H., Tressel R.P., et al. Total fish meal replacement with rapeseed protein concentrate in diets fed to rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum). *Aquacult. Int.* 2012, 20, 443—453.
- Krogdahl A., Penn M., Thorsen J., et al. Important antinutrients in plant feedstuffs for aquaculture: an update on recent findings regarding responses in salmonids. *Aquacult. Res.* 2010, 41, 333—344.

24. Green T.J., Smullen R., and Barnes A.C. Dietary soybean protein concentrate—induced intestinal disorder in marine farmed Atlantic salmon, *Salmo salar* is associated with alterations in gut microbiota. *Vet. Microbiol.* 2013, 166, 286—292.
25. Merrifield D.L., Ringo E., Myklebust R., Olsen R.E. Dietary effect of soybean (*Glycine max*) products on gut histology and microbiota of fish: Soybean and Nutrition (Eds. H. El—Shemy), Rijeka, Croatia: INTECH, 2011, 231—250.
26. Rentsch M.L., Lametsch R., Bugel S., et al. The effects of eating marine—or vegetable—fed farmed trout on the human plasma proteome profiles of healthy men. *Brit. J. Nutr.* 2015, 113, 699—707.
27. Hixson S.M. Fish nutrition and current issues in aquaculture: the balance in providing safe and nutritious seafood, in an environmentally sustainable manner. *J. Aquacult. Res. Develop.* 2014, 5, 234—244.
28. Volodina S.Yu., Buravleva G.I., Vdovina N.V., et al. Some information about soybean products. *Uspekhi Sovremennogo Estestvoznaniya (Proceedings of Current Science)*. 2006, (12), 84.
29. Gupta A.J., Gruppen H., Maes D., et al. Factors causing compositional changes in soy protein hydrolysates and effects on cell culture functionality. *J. Agric. Food Chem.* 2013, 61, 10613—10625.
30. Karr-Lilienthal L.K., Grieshop C.M., Merchen N.R., et al. Chemical composition and protein quality comparisons of soybeans and soybean meals from five leading soybean—producing countries. *J. Agric. Food Chem.* 2004, 52, 6193—6199.
31. Petibskaya V.S. Soy: chemical composition and use (Ed. V.M. Lukomets), Maikop: Poligraf-Yug, 2012.
32. Nishinari K., Fang Y., Guo S., et al. Soy proteins: a review on composition, aggregation and emulsification. *Food Hydrocolloid.* 2014, 39, 301—318.
33. Chabanon G., Chevalot I., Framboisier X. Hydrolysis of rapeseed protein isolates: Kinetics, characterization and functional properties of hydrolysates., *Process Biochem.* 2007, 42, 1419—1428.
34. Aider M., and Barbana C. Canola proteins: composition, extraction, functional properties, bioactivity, applications as a food ingredient and allergenicity, A practical and critical review. *Trends Food Sci. Tech.* 2011, 22, 21—39.
35. Rodrigues I.M., Coelho J.F., Carvalho M.G.V. Isolation and valorisation of vegetable proteins from oilseed plants: Methods, limitations and potential. *J. Food Eng.* 2012, 109, 337—346.
36. Von Der Haar D., Müller K., Bader-Mittermaier S., et al. Rapeseed proteins, Production methods and possible application ranges. *OCL*, 2014, 21, D104.
37. Francis G., Makkar H.P.S., and Becker K. Antinutritional factors present in plant—derived alternate fish feed ingredients and their effects in fish. *Aquaculture.* 2001, 199, 197—227.
38. Nagel F., Slawski H., Adem H., et al. Albumin and globulin rapeseed protein fractions as fish meal alternative in diets fed to rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* W.). *Aquaculture.* 2012, 354, 121—127.
39. Sahlmann C., Sutherland B.J.G., Kortner T.M., et al. Early response of gene expression in the distal intestine of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) during the development of soybean meal induced enteritis. *Fish Shellfish Immun.* 2013, 34, 599—609.
40. Anderson R.L., and Wolf W.J. Compositional changes in trypsin inhibitors, phytic acid, saponins and Iso?avones related to soybean processing. *J. Nutr.* 1995, 125, S581— S588.
41. Krogdahl A., Gajardo K., Kortner T.M., et al. Soya saponins induce enteritis in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *J. Agric. Food Chem.* 2015, 63, 3887—3902.
42. Knudsen D., Jutfelt F., Sundh H., et al. Dietary soya saponins increase gut permeability and play a key role in the onset of soyabeen—induced enteritis in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). *Brit. J. Nutr.* 2008, 100, 120—129.
43. Bell J.M. Nutrients and toxicants in rapeseed meal: a review. *J. Anim. Sci.* 1984, 58, 996—1010.
44. Naczki M., and Shahidi F. The effect of methanol—ammonia—water treatment on the content of phenolic acids of canola. *Food Chem.* 1989, 31, 159—164.
45. Silvañ J.M. van de Lagemaat J., Olano A., et al. Analysis and biological properties of amino acid derivatives formed by Maillard reaction in foods. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 2006, 41, 1543—1551.
46. Bérot S., Compoin J.P., Larre' C., et al. Large scale purification of rapeseed proteins (*Brassica napus* L.). *J. Chromatogr. B.* 2005, 818, 35—42.
47. Kumar V., Sinha A. K., Makkar H. P. S., et al. Phytate and phytase in fish nutrition. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.* 2012, 96, 335—364.
48. Vielma J., Mäkinen T., Ekholm P., et al. Influence of dietary soy and phytase levels on performance and body composition of large rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and algal availability of phosphorus load., *Aquaculture.* 2000, 183, 349—362.
49. Storebakken T., Shearer K.D., and Roem A.J. Growth, uptake and retention of nitrogen and phosphorus, and absorption of other minerals in Atlantic salmon *Salmo salar* fed diets with fish meal and soy—protein concentrate as the main sources of protein. *Aquacult. Nutr.* 2000, 6, 103—108.
50. Thiessen D.L., Maenz D.D., Newkirk R.W., et al. Replacement of fishmeal by canola protein concentrate in diets fed to rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquacult. Nutr.* 2004, 10, 379—388.
51. Wacyk J., Powell K., Rodnick K., et al. Dietary protein source significantly alters growth performance, plasma variables and hepatic gene expression in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed amino acid balanced diets. *Aquaculture.* 2012, 356, 223—234.
52. Desai A.R., Links M.G., Collins S.A., et al. Effects of plant—based diets on the distal gut microbiome of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture.* 2012, 350, 134—142.

53. Rommi K., Hakala T.K., Holopainen U., et al. Effect of enzyme-aided cell wall disintegration on protein extractability from intact and dehulled rapeseed (*Brassica rapa* L. and *Brassica napus* L.) press cakes. *J. Agricult. Food Chem.* 2014, 62, 7989—7997.
54. Zambonino J.L., and Cahu C. Effect of nutrition on marine fish development and quality: Recent advances in aquaculture research. [Ed. G. Koumoundouros], Kerala: Transworld Research Network, 2010, 103—124.
55. Ronnestad I., Yüfera M., Ueberschar B., et al. Feeding behaviour and digestive physiology in larval fish: current knowledge, and gaps and bottlenecks in research. *Rev. Aquacult.* 2013, 5, S59—S98.
56. Hamre K., Yüfera M., Rønnestad I., et al. Fish larval nutrition and feed formulation: knowledge gaps and bottlenecks for advances in larval rearing. *Rev. Aquacult.* 2013, 5, S26—S58.
57. Barnes M.E., Brown M.L., and Neiger R. Comparative performance of two rainbow trout strains fed fermented soybean meal. *Aquacult. Int.* 2015, 23, 1227—1238.
58. Barnes M.E., Brown M.L., Rosentrater K.A., et al. Preliminary evaluation of rainbow trout diets containing PepSoyGen, a fermented soybean meal product, and additional amino acids. *Open Fish Sci. J.* 2013, 6, 19—27.
59. Yamamoto T., Iwashita Y., Matsunari H., et al. Influence of fermentation conditions for soybean meal in a non-fish meal diet on the growth performance and physiological condition of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. *Aquaculture.* 2010, 309, 173—180.
60. Dabrowski K., Zhang Y., Kwasek K., et al. Effects of protein-, peptide- and free amino acid-based diets in fish nutrition. *Aquacult. Res.* 2010, 41, 668—683.
61. Berge G.M., and Storebakken T. Fish protein hydrolyzate in starter diets for Atlantic salmon (*Salmo salar*) fry. *Aquaculture.* 1996, 145, 205—212.

С.В Кононова,
к.б.н., ведущий инженер,
S.V. Kononova,
Ph.D, Lead Engineer,
e-mail: skonon23@gmail.com

Т.А. Муранова,
к.х.н., старший научный сотрудник,
Т.А. Muranova,
Ph.D, Senior Researcher,
e-mail: muranova@bibch.ru

Д.В. Зинченко,
к.б.н., старший научный сотрудник,
D.V. Zinchenko,
Ph.D, Senior Researcher,
e-mail: zdv@bibch.ru

Н.А. Белова,
д.б.н., профессор,
N.A. Belova,
Doct.Sci, Prof.,
e-mail info@biotech.msu.ru

А.И. Мирошников,
д.х.н., профессор,
академик РАН, заместитель директора,
A.I. Miroshnikov,
Academician of Russian Academy of Sciences,
Deputy Director,
Doct. Sci., Prof.,
e-mail: aiv@ibch.ru