



### ПЕРСПЕКТИВЫ РЫБОЛОВСТВА И АКВАКУЛЬТУРЫ В СОВРЕМЕННОМ МИРЕ (Звенигород, апрель 2018)





# Биотехнологический потенциал гидробионтов Арктических морей

БИОТЕХНОЛОГИЯ дисциплина, изучающая BOSMOXHOCTU использования живых организмов, их систем или продуктов их жизнедеятельности для решения технологических задач

### ПЕРСПЕКТИВЫ РЫБОЛОВСТВА И АКВАКУЛЬТУРЫ В СОВРЕМЕННОМ МИРЕ (Звенигород, апрель 2018)





# Протеолиз и ферменты, обеспечивающие этот процесс в тканях морских беспозвоночных

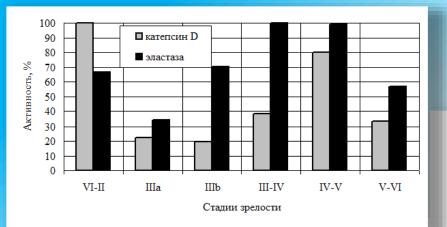


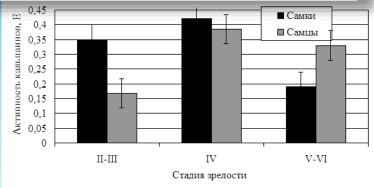




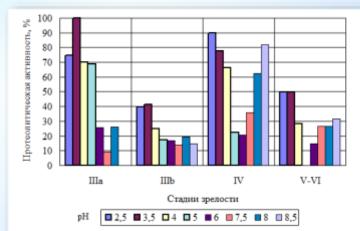
### 3 ПРИЧИНЫ. ПОЧЕМУ ИМЕННО ОНИ?:

- 1. Концетрация ферментов в пищеварительных органах (во внутренностях) животных значительно выше, чем в мышечной ткани.
- При разделке, как правило, внутренности являются отходом производства.
- 3. Организмы, обитающие в экстремальных условиях среды, являются носителями уникальных биохимических свойств, позволяющих им выживать. Повышенная активность протеиназ, в частности, один из таких механизмов. Она служит интенсивной компенсацией за холодные условия среды обитания и слабую дифференциацию и специализации пищеварительной системы.

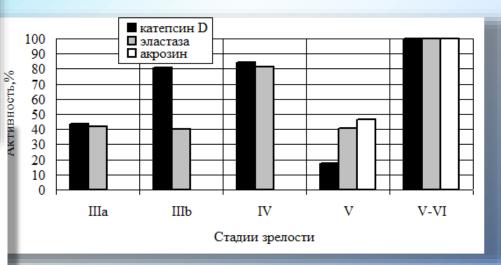




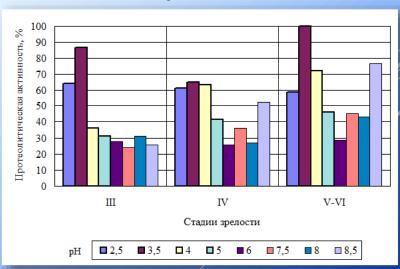
#### Сезонные колебания



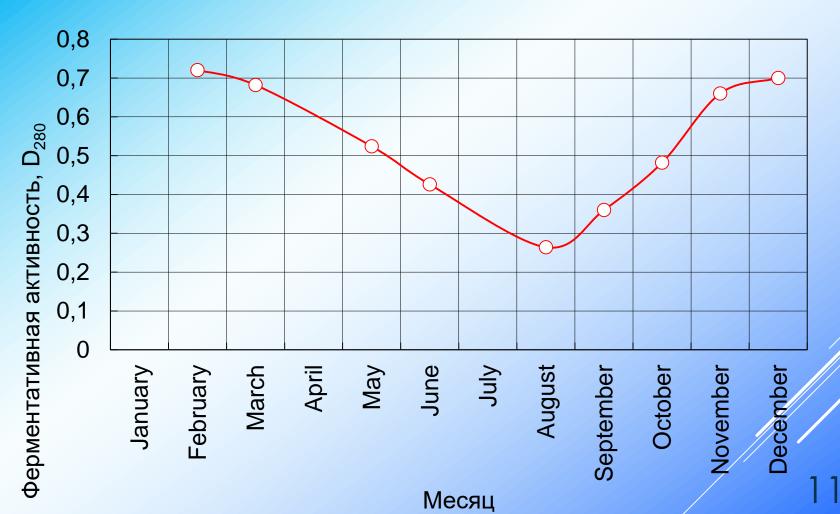
### Strongylocentrotus droebachiensis



### Chlamys islandica



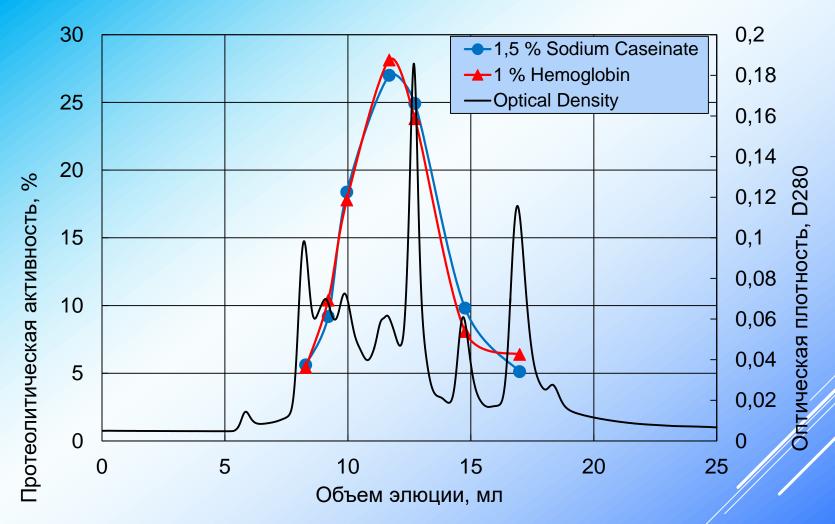
### СЕЗОННЫЕ ФЛУКТУАЦИИ ПРОТЕОЛИТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ В ГЕПАТОПАНКРЕАСЕ КАМЧАТСКОГО КРАБА



### НЕКОТОРЫЕ ПРОТЕИНАЗЫ ВЫДЕЛЕНЫ И ОПИСАНЫ ИХ СВОЙСТВА:

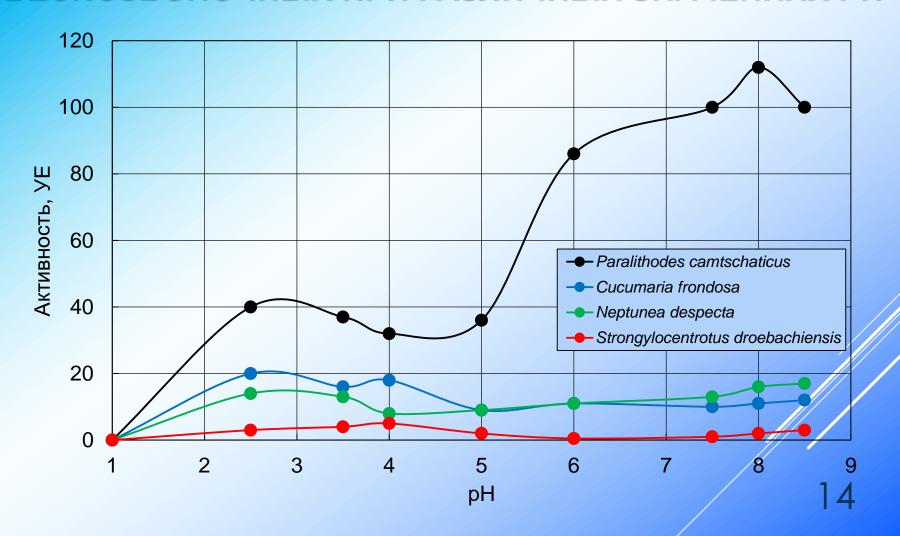
- КИСЛАЯ ПРОТЕИНАЗА ИЗ ГОНАД ИСЛАНДСКОГО ГРЕБЕШКА CHLAMYS ISLANDICA;
- КИСЛАЯ ПРОТЕИНАЗА ИЗ ГЕПАТОПАНКРЕАСА KAMYATCKOГO КРАБА PARALITHODES CAMTSCHATICUS;
- КАЛЬЦИЙ-АКТИВИРУЕМАЯ ПРОТЕИНАЗА ИЗ ГОНАД МОРСКОГО ЕЖА STRONGYLOCENTROTUS DROEBACHIENSIS

#### ХРОМАТОГРАММА КОМПЛЕКСА ФЕРМЕНТОВ ИЗ ГЕПАТОПАНКРЕАСА КАМЧАТСКОГО КРАБА

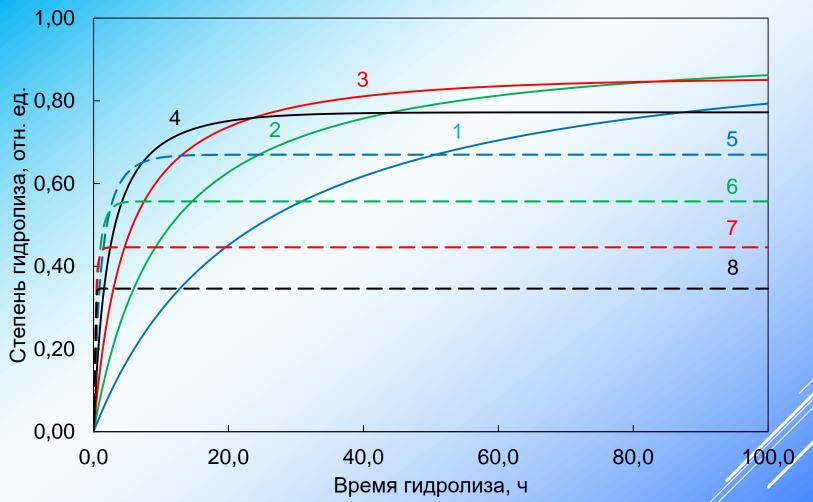


Колонка (30 X 0,78 см) TSK-gel Alpha-4000, 13 TSK-guardcolumn Alpha (6 X 0,4 см). Скорость элюции - 1 мл/мин.

# ОБЩАЯ ПРОТЕОЛИТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ В ПИЩЕВАРИТЕЛЬНЫХ ОРГАНАХ МОРСКИХ БЕСПОЗВОНОЧНЫХ ПРИ РАЗЛИЧНЫХ ЗНАЧЕНИЯХ РН



### ТЕМПЕРАТУРНАЯ ЗАВИСИМОСТЬ АКТИВНОСТИ ПРОТЕИНАЗ ИЗ ГЕПАТОПАНКРЕАСА КАМЧАТСКОГО КРАБА



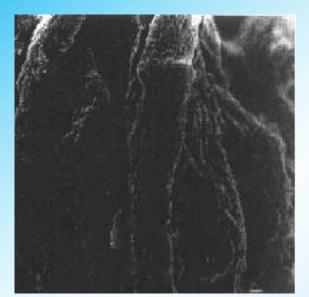
Кинетические кривые образования продуктов распада белков при различной температуре среды (°С): 0 (1), 10 (2), 20 (3), 30 (4), 40 (5), 50 (6), 60 (7), 70 (8).

### ПУТИ ПРАКТИЧЕСКОГО ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ПРОТЕИНАЗ И БЕЛКОВЫХ ГИДРОЛИЗАТОВ

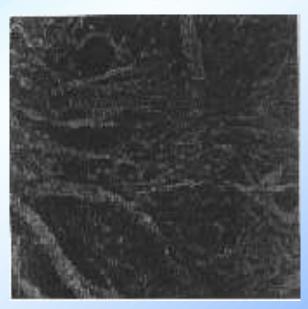
#### Протеиназы:

- Тендеризация жестких мясных тканей
- «Созревание» рыбных пресервов
- Действующее вещество для косметических средств
   Белковые гидролизаты:
  - Добавка в корма (молодь рыб, цыплята-бройлеры)
  - > Микробиологические питательные среды
  - > Композиции для энтерального питания людей

# МИКРОФОТОГРАФИИ СРЕЗОВ МЫШЕЧНОЙ ТКАНИ ГОВЯДИНЫ



контроль



0,05 % ферм.



ДО «СОЗРЕВАНИЯ»

«СОЗРЕВШЕЕ» МЯСО

### ПРОЦЕСС СОЗРЕВАНИЯ РЫБНЫХ ПРЕСЕРВОВ



Были определены оптимальные условия для обеспечения процесса созревания различных гидробионтов: атлантическая треска Gadus morhua, пинагор Cyclopterus lumpus, серая тригла Eutrigla gurnardus, морской окунь Sebastes mentella, и моллюски: Neptunea despecta and Serripes groenlandicus.

# ПРОИЗВОДСТВО ЛЕКАРСТВЕННЫХ МАЗЕЙ НАРУЖНОГО ПРИМЕНЕНИЯ РАНОЗАЖИВЛЯЮЩЕГО И РУБЦОВО-РАССАСЫВАЮЩЕГО ДЕЙСТВИЯ











# РАСЧЕТ ЭКОНОМИЧЕСКОЙ ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРОИЗВОДСТВА ПРОТЕОЛИТИЧЕСКОГО КОМПЛЕКСА ИЗ ГЕПАТОПАНКРЕАСА КАМЧАТСКОГО КРАБА

- **0.1-0.05% норма добавления в мази**
- 1 кг ферментного препарата позволяет произвести 1-2 тонны эффективной мази.
- Мази фасуются по 30-50 г, т.е. это 20-60 тыс. тюбиков.
- 50 кг гепатопанкреаса можно получить от 200-300 нагульных самцов камчатского краба на промысле.
- 50 кг гепатопанкреаса дает возможность произвести ок. 1 кг ферментного комплекса.
- Один тюбик стоит в розницу ок. 1200 руб. (600 руб. опт).
- 50% стоимости тюбика цена ферментного препарата.
- Таким образом, отходы от разделки нескольких сотен крабов могут принести прибыль, как минимум 6 млн. руб.
- Рыночная цена мяса, полученного от такого же количества крабов, едва ли составит более 500-600 тыс. руб.
- Т.о., эффективность производства протеиназ десятикратно превосходит таковую обычного крабового промысла

### РАЗЛИЧНЫЕ БЕЛКОВЫЕ ГИДРОЛИЗАТЫ

Мы смогли разработать и практически использовать с разной степенью успешности 4 типа белковых ферментативных гидролизатов

- 1. В качестве премикса в корма для цыплятбройлеров;
- 2. В качестве дополнительного компонента бавки в корма для молоди атлантичксого лосося;
- 3. В качестве основы микробиологичексих питательных сред;
- 4. В качестве компонента энтерального питания для людей.

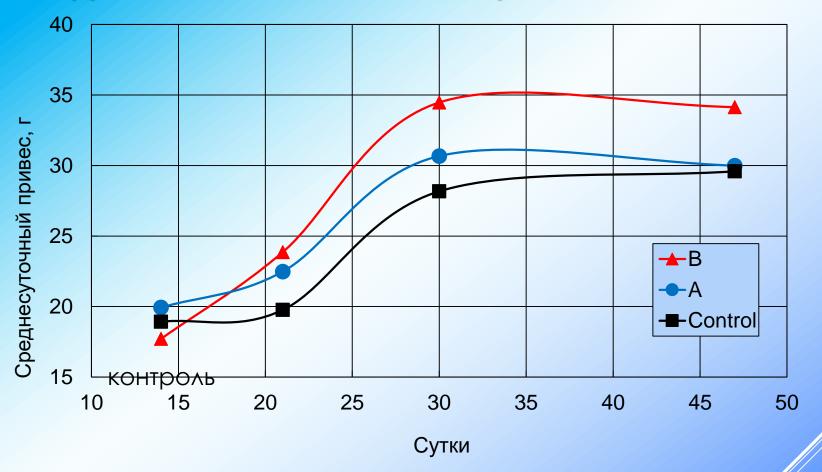
### ЦЫПЛЯТА-БРОЙЛЕРЫ В ВОЗРАСТЕ 47 СУТОК

Птицефабрика 'Снежная' Мурманская обл.



2

### СРЕДНЕСУТОЧНЫЙ ПРИВЕС ЦЫПЛЯТ-БРОЙЛЕРОВ



Среднесуточный привес цыплят (в среднем на 1 особь), содержащихся на различных кормовых диетах.

Контроль (обычный корм); A – группа (+10% негидролизованных сухих отходов переработки исландского гребешка); В – group (+10% гидролизата отходов переработки исландского гребешка (СГ– 17%).

### ТЕОРИИ, ОБЪЯСНЯЮЩИЕ ЭТОТ ЭФФЕКТ

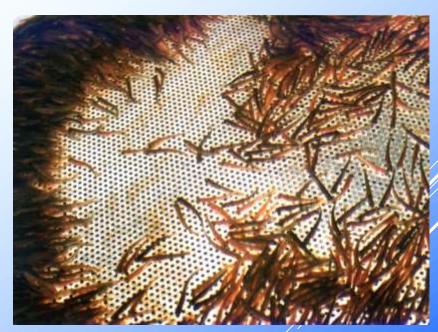
- 1. *Биохимическая*. Пищеварительная система куриных плохо адаптирована к перевариванию белков животного происхождения. Частичное переваривание белков приводит к более полному их усвоению.
- 2. Физиологическая. Рост массы бройлеров осуществляется, главным образом, за счет белков. В среднем, около 30 % энергии рассеивается в виде тепла. Предварительное переваривание белков позволяет избежать этих энергетических потерь.
  - 3. Микробиологическая. Низкомолекулярные продукты гидролиза белков создают в кишечнике питательную среду для жизнедеятельности бактерий, в том числе, целлюлозоферментирующих, что позволяет цыплятам более эффективно переваривать клетчатку, которая в больших количествах содержится в кормах для птицы.

## КАНДАЛАКШСКИЙ РЫБОРАЗВОДНЫЙ ЗАВОД, МУРМАНСКАЯ ОБЛ.

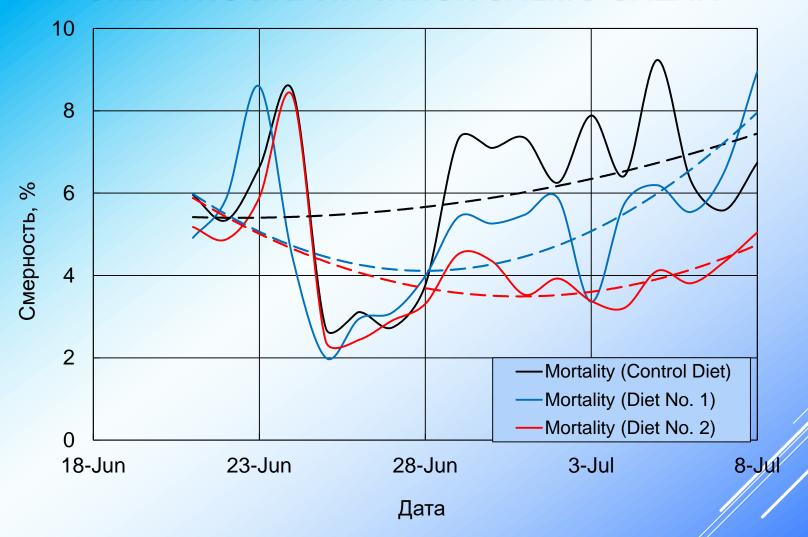
Личинки Salmo Salar в возрасте 15 суток (450-500 тs)

Личинки Salmo Salar в возрасте 45 суток (900-1000 τs)





#### CMEPTHOCTЬ ЛИЧИНОК SALMO SALAR



Смертность Salmo Salar в возрасте 30-45 суток (600-1000 тs), на различных кормах: 1 – контроль; 2 – диета №1 (5 %-замена гидролизатом рыбной муки); 3 – диета №2 (20 %-замена гидролизатом рыбной муки)

# ВЫЖИВАЕМОСТЬ МОЛОДИ СЕМГИ, СОДЕРЖАЩЕЙСЯ НА РАЗЛИЧНЫХ КОРМАХ

Показатель	Контроль	Диета 1	Диета 2
Исходное кол-во личинок, шт.	5256	4212	4326
Выжившие через 15 суток, шт.	1387	1348	1792
Выживаемость, %	26,39	32,00	41,42
Выживаемость относительно	1	1,21	1,57
контроля			
Выжившие через 45 суток, шт.	1326	1134	1597
Выживаемость, %	25,23	26,92	36,91
Выживаемость относительно	1	1,07	1,46
контроля			
Выжившие через 70 суток, шт.	1280	1102	1581
Выживаемость, %	24,35	26,16	36,55
Выживаемость относительно	1	1,08	1,50
контроля			

2/

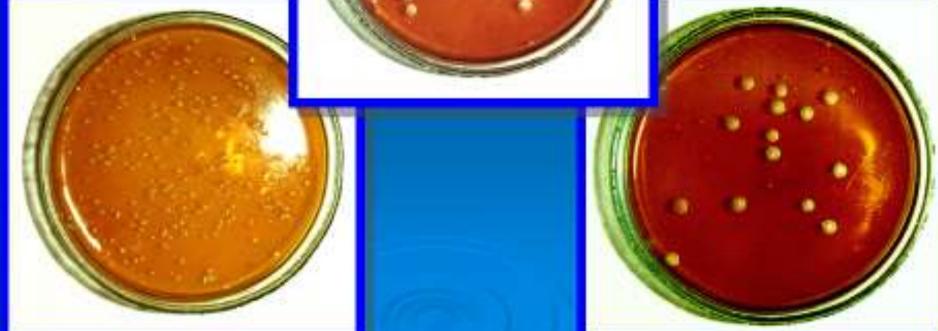
### ГНЦ «ПИТАТЕЛЬНЫЕ СРЕДЫ», МОСКОВСКАЯ ОБЛ.

### Microbiological tests

Тестирование белковых ферментативных гидролизатов в составе микробиологических питательных сред



Использованы тесткультуры Bacillus anthracis и Staphilococcus aureus



# БЕЛКОВЫЕ ГИДРОЛИЗАТЫ ДЛЯ ЭНТЕРАЛЬНОГО ПИТАНИЯ ЛЮДЕЙ







29

# ДИНАКИКА ПОКАЗАТЕЛЕЙ КРОВИ БОЛЬНЫХ, ПРИНИМАВШИХ ПРЕПАРАТ «ГИДРОЛИЗАТ ИЗ ФИЛЕ ИСЛАНДСКОГО ГРЕБЕШКА»

N	Показатель	Норма	%	Кол-во
		(в среднем)	приближения	обследуемых
			к норме	пациентов (n)
1	Гемоглобин	130-160 г/л	18,5	11
2	Общий белок	65-85 г/л	28,9	12
3	Мочевина	3,3-6,6 ммол/л	26,7	10
4	Лейкоциты	4000-8000 шт. /мкл	52,9	11
		,		
5	Сегментоядерные лейкоциты	65-75 %	20,8	10
6	Лимфоциты	20-35 %	38,8	//12/
7	Скорость осаждения эритроцитов	5-9 мм/ч	95,9	1230
	оритроцитов			

### выводы и закономерности

- 1. Внутренние органы морских беспозвоночных уникальные природные источники протеиназ.
- 2. Протеолитическая активность в органах и тканях гидробионтов подвержена существенным колебаниям, адекватно отражающим физиологическое состояние организмов. Эти колебания обусловлены сменами периодов нагула и нереста.
- 3. Некоторые протеиназы были выделены и охарактеризованы: кислые протеиназы из гепатопанкреаса камчатского краба и гонад исландского гребешка, кальций-активируемая нейтральная протеиназа из гонад морского ежа.
- 4. Не существует «холодолюбивых протеиназ». Повышенная активность протеиназ в пищеварительных органах бореальных гидробионтов есть экстенсивная эволюционная компенсация за холодные условия обитания, слабую тканевую специализацию и низкую субстратную специфичность.

### выводы и закономерности

- 5. Протеиназы могут быть применены в различных областях:
- Ускорение процесса «созревания» пресервов
- Тендеризация жестких мясных тканей
- Косметические цели, включая косметическую хирургию
- 6. Главное направление использование протеиназ морских гидробионтов модификация белковой трофической компоненты для различных организмов, включая человека:
- Гидролизаты для микробиологических сред.
- Кормовые гидролизаты для различных животных, которые в силу физиологических особенностей не могут эффективно расщеплять белки.
- Пищевые гидролизаты для составления композиций энтерального питания для людей. 32

