

Сахалинский научно-исследовательский институт
рыбного хозяйства и океанографии
(СахНИРО)



ПРИБРЕЖНОЕ РЫБОЛОВСТВО – XXI ВЕК

МАТЕРИАЛЫ
МЕЖДУНАРОДНОЙ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКОЙ КОНФЕРЕНЦИИ

19-21 сентября 2001 г.

Часть 2

Касьяненко Ю.И., Эпштейн Л.М., Гажа А.К., Беседнова Н.Н., Гуляков М.Б., Шуваев В.Т. Биологически активная пищевая добавка – дезоксирибонуклеиновая кислота (ДНК) из молок лососевых // Изв. ТИНРО. – 1999. - Т. 125. - С. 139-146.

Давидович В.В. Технологии получения новых видов продуктов из двусторчатых моллюсков // Тез. докл. «Пищевые технологии: проблемы и перспективы в XXI веке». Владивосток. 2000. - С. 189-190.

Северин С.Е. Биологическая роль природных дипептидов скелетной мускулатуры // Вест. МГУ. - 1972. - Т. 1. - С. 3-18.

Симония Г.В., Татишвили Н.И., Шепия Д.Ш. и др. Влияние карнозина на активность Na, K – АТФ-азы: перспективы применения в кардиологии // Биохимия. - 1992. - Т. 57, № 9. - С. 1343-1347.

Гончаренко Е.Н., Деев Л.И., Ахалая М.Я. и др. Исследование влияния карнозина и мидийного гидролизата на некоторые аспекты обмена липидов и аминов у крыс, подвергнутых кратковременному охлаждению // Вест. МГУ. Сер. биол. - 1995. - № 2. - С. 37-41.

Болдырев А.А. Карнозин: биологическая роль и возможности применения в медицине // Биохимия. - 1992. - Т.57, № 9. - С. 1302-1310.

Формазюк В.Е., Сергиенко В.И. Применение карнозина в медицинской практике. Приоритеты: прошлое и будущее // Биохимия. - 1992. - Т. 57, №9. - С. 1311-1316.

Аюшин Н.Б., Петрова И.Ю., Эпштейн Л.М. Таурин и карнозин в тканях тихоокеанских моллюсков // Вопр. питания. - 1997. - № 6. - С. 6-8.

Ковалев Н.Н. Гистидинсодержащие дипептиды. Свойства и перспективы применения // Изв. ТИНРО. - 1999. - Т. 125. - С. 159-164.

УДК 664.951.001.5:664.959.5

КОРМОВЫЕ БЕЛКОВЫЕ ПРОДУКТЫ ИЗ ОТХОДОВ ПЕРЕРАБОТКИ ИСЛАНДСКОГО ГРЕБЕШКА *CHLAMYS ISLANDICA*

*Мухин В. А., Новиков В. Ю.,
Полярный научно-исследовательский институт
рыбного хозяйства и океанографии, г. Мурманск*

В работе проведены биохимические исследования по подбору условий для осуществления ферментативного гидролиза отходов переработки исландского гребешка с целью получения кормовой белковой добавки. Для объективной оценки степени расщепления белков использованы весовой и спектральный анализы, определение содержания аминного азота и свободных аминокислот. По вышеназванным критериям подобраны оптимальные условия расщепления белков сырья с использованием в качестве протеолитического препарата комплекса ферментов из гепатопанкреаса камчатского краба: продолжительность 1-1,5 часа, рН 6,8–8,2, температура 50-55°C, количественное соотношение белоксодержащего субстрата и ферментного препарата – 1 кг : 2 г, гидромодуль от 1:0 до 1:1. Рассмотрена возможность утилизации остатка после получения гидролизатов для микробиологических сред. С этой целью проведен сравнительный анализ химического состава этого остатка и кормового гидролизата. Остаток после глубокого гидролиза характеризуется несколько меньшим содержанием белка, но большим количеством липидов, а значит, большей энергетической ценностью. Белковые вещества в остатке представлены главным образом свободными аминокислотами и крупными негидролизованнами белками, в то время как в кормовом гидролизате – пептидами со средней степенью расщепления. Есть

основания считать, что остаток после получения гидролизатов для микробиологических целей соответствует по основным показателям кормовому гидролизату и может быть столь же эффективен при его введении в корма.

The work describes biochemical investigations on selecting conditions for accomplishing a fermentative hydrolysis of waste after processing the Iceland scallop to receive a fodder protein adding. Both weight and spectral analyses, and determination of content of amine nitrogen and free aminoacids have been used for the objective estimate of the protein disintegration level. By the above criteria, the optimal conditions for the protein disintegration in primary products were selected using a complex of ferments from the hepato-pancreas of king crab as a proteolytic preparation: duration 1-1.5 hours; pH 6.8-8.2; temperature 50-55° C; quantitative ratio of the protein-containing substratum and ferment preparation 1 kg:2 g; hydromodule of 1:0 to 1:1. A possibility of the residuum utilization after receiving hydrolyzates for microbiological environments has been considered. For this purpose a comparative analysis of chemical composition of this residuum and fodder hydrolyzate was conducted. The residuum after the deep hydrolysis is characterized by a little less content of protein, but most number of lipids and, so far, by most energy importance. Protein substances in the residuum are represented mainly by free aminoacids and large non-hydrolyzed proteins, whereas in the fodder hydrolyzate by peptides with the mean level of disintegration. There is the ground to consider that the residuum after receiving hydrolyzates for microbiological objectives corresponds to the fodder hydrolyzate by the main indices and can be very effective at its introduction into forage.

ВВЕДЕНИЕ

При использовании гидролизатов в качестве кормовых компонентов для рыб, птиц или молодняка домашних животных, как правило, желательна средняя степень гидролиза (СГ) белков ввиду того, что растворы гидролизатов имеют значительно большее осмотическое давление по сравнению с обычной белковой пищей и поэтому, попадая в ЖКТ, они могут вызывать диарею или рвоту (Комаров, 1982).

Ферментативные гидролизаты белка с успехом добавляли в корма молодняку – телятам (Soluble fish protein..., 1982) и пороссятам (Bouchez, Azzi, 1991).

Белковые гидролизаты нашли свое применение в производстве стартовых кормов для рыб: карпа (Турецкий, Ильина, 1985) и осетра (Бигжи, 2000). Очевидно, в гидролизатах содержатся пептиды, молекулярная масса которых способствует их лучшему усвоению под действием пищеварительных ферментов рыб.

Оптимальная СГ для обеспечения максимального прироста молоди рыб, как показано рядом исследователей, составляет от 15 до 25%. При меньшей СГ, как и при большей, наблюдается уменьшение прироста и увеличение кормового коэффициента (Гидролизаты рыбной муки..., 1986).

Изменение состава стартовых кормов путем введения в них белковых гидролизатов позволяет снизить кормовой коэффициент и повысить выживаемость молоди.

В настоящей работе были поставлены следующие задачи:

- определить оптимальные режимы получения ферментативных белковых гидролизатов, пригодных для использования в качестве кормовой добавки;
- сравнить химический состав и свойства полученного гидролизата и остатка после получения гидролизатов для микробиологии.

ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

В качестве субстрата для протеолиза использовали отходы переработки исландского гребешка (ОПГ) *Chlamys islandica*: мантию, гонады, жабры.

В качестве ферментного препарата (ФП) использовали комплекс протеиназ из гепатопанкреаса камчатского краба (Мухин, Новиков, 2001). Препарат содержит око-

ло 90% белка и проявляет активность в нейтральной среде по отношению к различным белковым субстратам: казеинату натрия (700 Е/мг); гемоглобину (100 Е/мг) и коллагену (120 Е/мг по Мандлу).

Сырье измельчали на гомогенизаторе 1094 «Tecator» (Швеция), затем подвергали 3-кратному замораживанию-оттаиванию.

Массовую долю общего ($N_{\text{общ}}$), аминного ($N_{\text{ам}}$) и небелкового азота ($N_{\text{нб}}$), липидов, остатка после прокаливания (золы) и воды определяли по государственным стандартам (ГОСТ 7636-85..., 1985).

Массовую долю белка рассчитывали, вычитая из 100% массовые доли известных компонентов. Это было обусловлено тем, что в состав исходного сырья входят различные азотсодержащие соединения, в том числе коллаген, и фракционный состав белков, входящих в состав исследуемой пробы, неизвестен. Так как коллаген содержит массовую долю азота, отличную от других белков, то обычный метод пересчета общего азота на белок в данном случае неприменим.

Активную кислотность (рН) определяли с помощью иономера универсального ЭВ-74 (СССР).

Гидролиз белоксодержащего сырья проводили при температурах от 10 до 70°C и рН 6,8–7,2 в течение 1–6 часов. Количество вносимого протеолитического фермента изменяли от 2 до 6 г на 1 кг сырья. Гидролиз останавливали кипячением реакционной смеси в течение 1 мин. в СВЧ-печи.

Липиды (верхняя пленка) и нерасщепленные белки (осадок) после гидролиза отделяли центрифугированием [AVANTI J-25 «Beckman» (Швейцария)] при температуре +4°C и скорости от 5 до 25 тыс. об./мин. (фактор осаждения 3,5–75,6 тыс. g).

Гидролизаты сушили при температуре 70–80°C.

Состав свободных аминокислот полученных гидролизатов исследовали методом двумерной тонкослойной хроматографии по методике научно-производственного центра «Ленхром» («Методика разделения...», 1995), применяя сканер CS-9000 фирмы «Shimadzu» (Япония). Для идентификации аминокислотного состава использовали стандарты аминокислот («Sigma», США).

Эффективность протеолитического расщепления субстратов (степень гидролиза) определяли различными методами:

1. Спектральный анализ в УФ-области спектра.

Спектры поглощения растворов гидролизатов снимали при 240–320 нм и температуре 20°C на спектрофотометре «Shimadzu UV-3101PC» (Япония).

Изменения концентрации белковых продуктов в гидролизатах определяли по изменению оптической плотности растворов гидролизатов при 280 нм после осаждения высокомолекулярных белковых соединений трихлоруксусной кислотой (ТХУ). Для этого к 1 мл раствора гидролизата с концентрацией сухих веществ около 1% добавляли 4 мл 10%-ного раствора ТХУ (в соотношении гидролизат:ТХУ, равном 1:4), образовавшийся осадок отделяли фильтрованием и определяли оптическую плотность фильтрата при 280 нм, из которой вычитали оптическую плотность фона при 320 нм.

2. Весовой метод.

Количественное перераспределение сухих веществ, содержащихся в исходном сырье, между раствором и осадком, отделенным центрифугированием, рассчитывали по массе и влажности растворов и осадков, полученных после проведения гидролиза.

3. Соотношение общего и аминного азота.

Для этого, соответственно, определяли соотношения $N_{\text{ам}} / N_{\text{общ}}$.

4. Содержание свободных аминокислот.

Количество свободных аминокислот (САК) в полученных гидролизатах определяли, как описано ранее. Помимо этого оценивали массовую долю азота, приходящегося на долю свободных аминокислот.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Изучение зависимости степени гидролиза от условий ферментативной обработки

Зависимость степени гидролиза белков ОПГ от температуры реакционной смеси при получении кормового гидролизата мы оценивали двумя способами: по изменению оптической плотности ТХУ-неосаждаемых белковых веществ и изменению содержания аминного азота (рис. 1). Обе зависимости имеют максимумы при близкой температуре – от 50 до 55°C. Эти данные хорошо согласуются с данными, полученными на стандартных белковых субстратах (казеине, гемоглобине и коллагене) (Мухин и др., 2001; Литвин, 1993; Сахаров, 1992).

Можно предполагать, что зависимость степени гидролиза от температуры определяется температурной зависимостью активности протеиназ и в меньшей степени обусловлена свойствами белков.

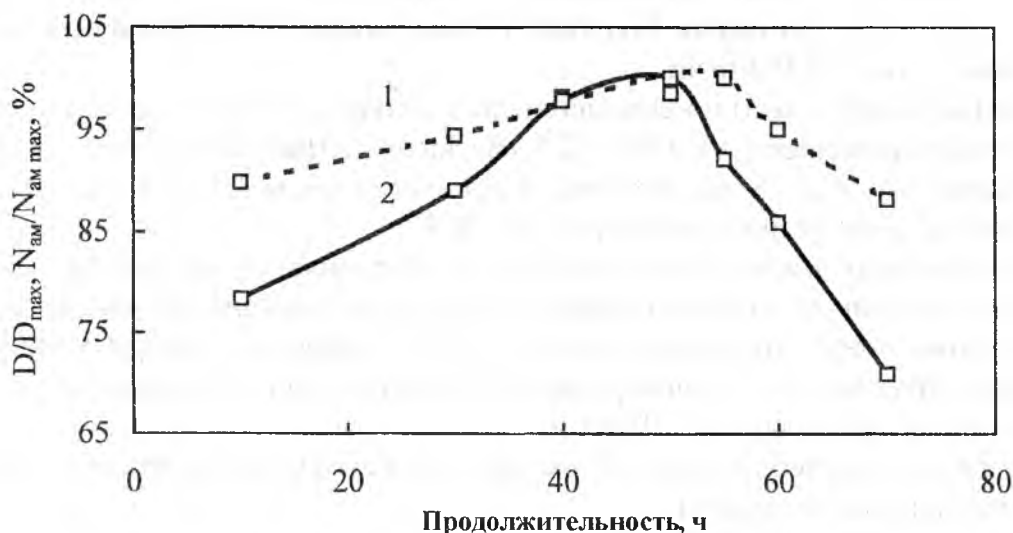


Рис. 1. Зависимость содержания $N_{ам}$ и ТХУ-неосаждаемых белковых веществ в процессе гидролиза белков ОПГ от температуры реакционной смеси: 1 – относительная оптическая плотность раствора в ТХУ, 2 – относительное содержание $N_{ам}$. (Условия гидролиза: рН 6,5; 2 г ФП/ кг сырья; гидромодуль 1:0)

Относительно небольшие различия глубины расщепления белков ОПГ при температурах, далеких от максимума, – 10 и 70°C, по-видимому, определяются тем, что для получения кормовых белковых гидролизатов использовали малую концентрацию ферментного препарата. С другой стороны, объяснение состоит в низких значениях степени гидролиза по сравнению с исходным субстратом, в котором присутствует определенное начальное количество аминного азота. Поэтому в относительных единицах мы получили завышенные значения в областях, соответствующих низкой активности ферментного препарата.

Подробно изучена кинетика ферментативного гидролиза белков ОПГ при двух концентрациях ферментного препарата: 6 г/кг ОПГ (гидролизат для микробиологических сред) и 2 г/кг ОПГ (гидролизат для кормовых целей).

Кинетические кривые перераспределения сухих и белковых веществ, аминного азота и липидов при получении гидролизата для микробиологических целей показаны на рисунках 2–5.

Перераспределение сухих и белковых веществ обнаруживает схожую закономерность, что определяется протеканием основного процесса – гидролиза белков с образованием водорастворимых пептидов и аминокислот. В результате белковые соединения, которые составляют основную массу сухих веществ в исходном сырье, переходят в растворимое состояние.

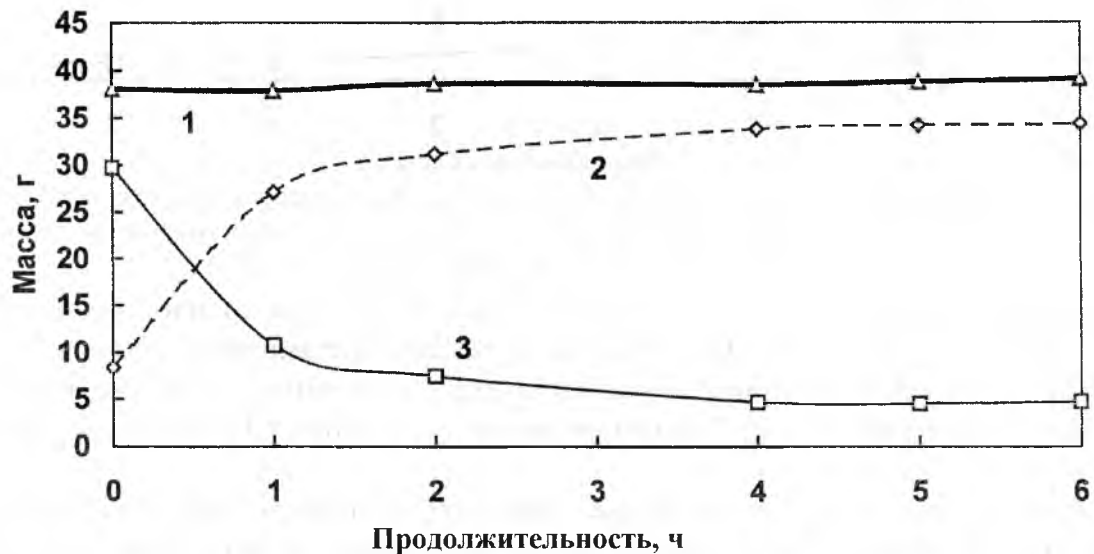


Рис. 2. Перераспределение сухих веществ между осадком и надосадочной жидкостью в процессе гидролиза отходов промысла гребешка: 1 – система в целом; 2 – надосадок; 3 – осадок. (Условия гидролиза: рН 6,5; температура 50°C; 6 г ФП/кг ОПК; гидромодуль 1:1.)

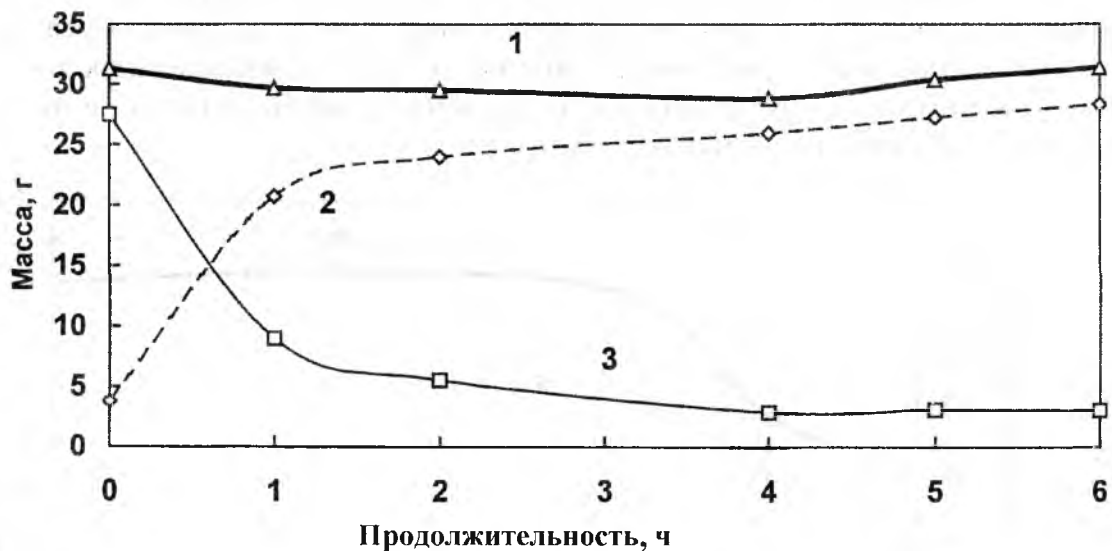


Рис. 3. Перераспределение белковых соединений между осадком и надосадочной жидкостью в процессе гидролиза отходов промысла гребешка: 1 – система в целом; 2 – надосадок; 3 – осадок. (Условия гидролиза: рН 6,5; температура 50°C; 6 г ФП/кг ОПК; гидромодуль 1:1)

Количество $N_{ам}$ в системе возрастает по мере протекания протеолиза (рис. 4). Причем основная часть низкомолекулярных веществ белковой природы переходит в раствор, т. е. в гидролизат для микробиологических сред.

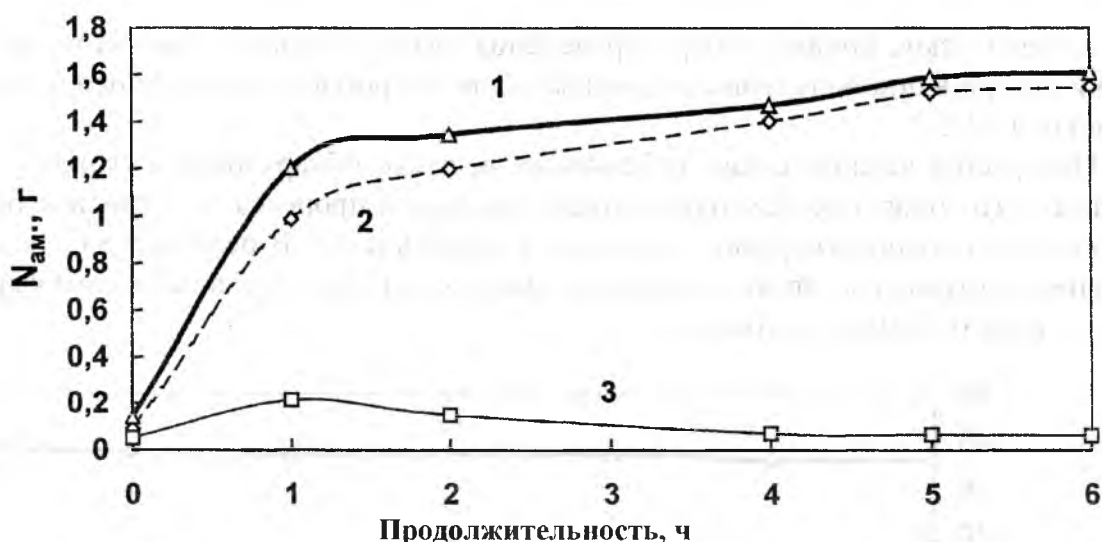


Рис. 4. Изменение $N_{ам}$ в осадке и надосадочной жидкости в процессе гидролиза отходов промысла гребешка: 1 – система в целом; 2 – надосадок; 3 – осадок. (Условия гидролиза: pH 6,5; температура 50°C; 6 г ФП/кг ОПГ; гидромодуль 1:1)

В осадке наблюдается сначала небольшое увеличение количества аминного азота, а потом его снижение. Первоначальное увеличение аминного азота в осадке происходит за счет роста количества частично гидролизованных плохо растворимых пептидов, которые при продолжении гидролиза и увеличении СГ постепенно переходят в раствор.

Часть аминного азота в осадке определяется присутствием водорастворимых белковых соединений, остающихся после отделения раствора (впитавшихся в осадок). При уменьшении общего количества осадка уменьшается и общее количество раствора, впитавшегося в него.

Содержание липидов в осадке после глубокого гидролиза ОПГ увеличивается (рис. 5). Вероятно, это объясняется тем, что липиды плохо растворяются в воде и после перехода белковых соединений в раствор часть липидов остается в осадке.

Увеличение абсолютной массы липидов в осадке в процессе гидролиза обусловлено, по-видимому, гидролитическим разрушением связей белков с липидами и последующим захватом последних осадком.



Рис. 5. Изменение абсолютного и относительного количества липидов в осадке в процессе гидролиза отходов промысла гребешка: 1 – масса липидов в г; 2 – массовая доля в %. (Условия гидролиза: pH 6,5; температура 50°C; 6 ФП/кг ОПГ; гидромодуль 1:1)

Часть липидов растворяется в воде. При получении гидролизатов для микробиологии мы отделяли их с помощью хитозана, что приводило к получению гидролизата с практически полным отсутствием липидов (Новиков, Мухин, 2001).

Сравнение химического состава кормового гидролизата и остатка после глубокого гидролиза ОПГ

С целью оценки возможности использования осадка после глубокого гидролиза (для микробиологии) в качестве кормовой добавки для животных мы сравнивали химический состав, степень гидролиза белков и состав свободных аминокислот кормового гидролизата, полученного и апробированного нами ранее в качестве кормовой добавки для птиц и рыб (Мухин, Новиков, 2002; Влияние введения..., 2001), и осадка после получения гидролизата для микробиологии (Мухин, Новиков, 2001). Мы обнаружили, что значения степени гидролиза ($N_{ам}/N_{общ} \times 100\%$) и содержания ТХУ-неосаждаемых белковых соединений ($D_{280}-D_{320}$) близки для кормовых гидролизатов и осадков, образующихся после проведения глубокого гидролиза (рис. 6). Исследуемые характеристики имеют схожую тенденцию изменения с увеличением продолжительности гидролиза.



Рис. 6. Изменения степени гидролиза и содержания ТХУ-неосаждаемых белковых веществ в процессе гидролиза ОПГ. Условия гидролиза: рН 6,5; температура 50°C. Кормовой гидролизат (2 г ФП/ кг ОПГ; гидромодуль 1:0): 1 – оптическая плотность раствора в ТХУ; 3 – степень гидролиза. Осадок после гидролиза (6 г ФП/кг ОПГ; гидромодуль 1:1): 2 – оптическая плотность раствора в ТХУ; 4 – степень гидролиза

Весьма близким оказывается содержание САК в исследованных образцах (табл.).

Таблица
Химический состав и показатели эффективности гидролиза в гидролизатах, осадке после гидролиза и в исходном сырье

Проба	Массовая доля, % (на сухое вещество)						Показатели, %		
	Зола	Липиды	Вещества белковой природы	$N_{общ}$	$N_{ам}$	САК	Степень гидролиза	$N_{ам}$ САК	$N_{ам}$ пептидов / $N_{ам}$ САК
Высушенные ОПГ	12,2	3,30	84,5	11,26	0,415	0,83	3,69	0,135	2,082
Кормовой гидролизат	14,5	5,19	80,3	11,05	1,927	9,76	16,76	1,233	0,563
Осадок после гидролиза	10,4	25,6	63,9	5,99	1,490	10,08	24,87	1,228	0,217
Гидролизат для микробиологии	17,7	0,00	82,3	11,32	4,450	32,88	39,31	4,150	0,072

Однако по химическому составу наблюдаются отличия, а именно: в осадке после 6-часового гидролиза обнаруживается большее количество липидов (более 25%) и несколько меньшее содержание белка – 64% по сравнению с кормовым гидролизатом (5,2 и 80% соответственно). При расчете $N_{ам}$, приходящегося на долю САК, и $N_{ам}$ за счет белков и пептидов обнаружено, что основная доля аминного азота в осадке после гидролиза приходится на САК. Так, отношение $N_{ам}$ пептидов/ $N_{ам}$ САК равняется 0,217 и 0,563 для осадка и кормового гидролизата соответственно. Таким образом, эти данные приводят к заключению о том, что качество белковых веществ несколько различается в этих продуктах. Если в гидролизате для кормов белковая составляющая представлена пептидами со средней глубиной гидролиза, то в осадке в основном присутствуют высокомолекулярные нерасщепленные белки и жидкость, пропитавшая осадок, которая по составу аналогична гидролизату для микробиологических целей.

Валовая энергия, содержащаяся в осадке после глубокого гидролиза, на 20% превосходит таковую для кормового гидролизата и исходного сырья за счет значительно большего содержания липидов.

Анализ аминокислотного состава показал, что в исходном сырье (ОПГ), гидролизате для микробиологии, кормовом гидролизате и остатке после отделения микробиологического гидролизата преобладают одни и те же свободные аминокислоты: аргинин, лизин, глицин, лейцин и изолейцин, таурин (рис. 7).

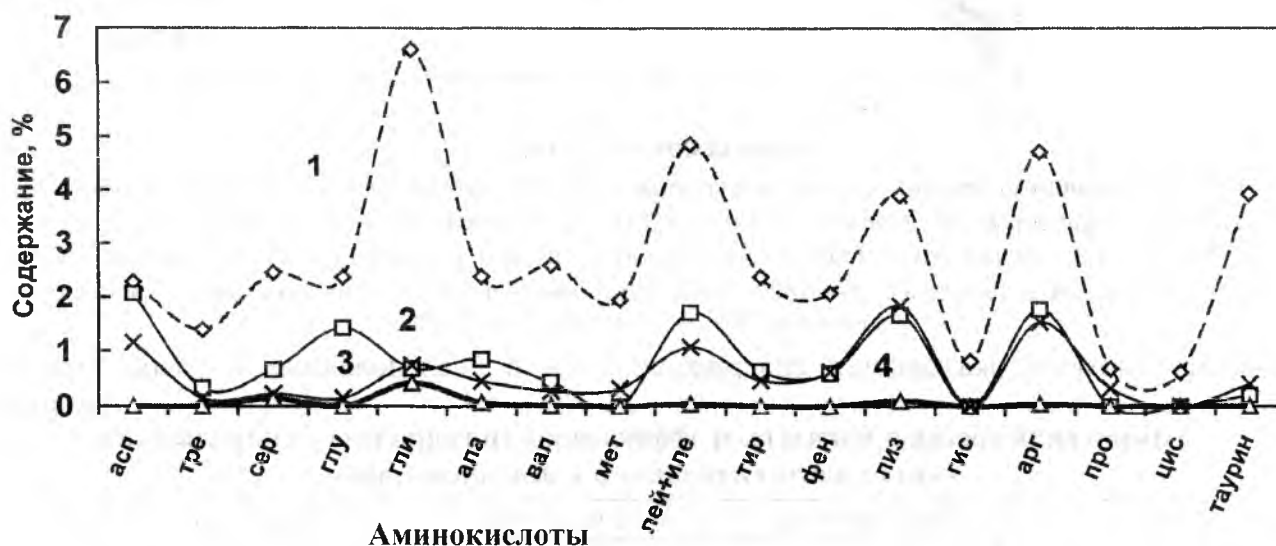


Рис. 7. Содержание САК в различных пробах: 1 – гидролизат для микробиологии; 2 – осадок после глубокого гидролиза; 3 – гидролизат для кормов; 4 – измельченные и высушенные ОПГ

Очевидно, это объясняется тем, что в обоих случаях протеолитическим агентом является один и тот же препарат. Отмечено достаточно высокое содержание глицина и глутаминовой кислоты в осадке после глубокого гидролиза. Эти аминокислоты, например, являются важнейшими стимуляторами роста цыплят-бройлеров (Кормление сельскохозяйственной..., 1982; Сравнительная физиология..., 1977).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенные исследования позволили определить оптимальные условия гидролиза отходов промысла исландского гребешка с целью получения кормового белкового гидролизата: температуру инкубационной среды, гидромодуль, соотношение ферментного препарата и субстрата. Для достижения средней степени гидролиза (15–25%) достаточно провести ферментализ в течение 1,5–2 часов при температуре 50–55°C в соотношении ФП:ОПГ как 2:100 при гидромодуле от 1:0 до 1:1.

Изучен состав и свойства полученного кормового гидролизата: общий химический состав, состав свободных аминокислот, степень гидролиза его белковой составляющей.

Установлено, что осадок, образующийся в процессе получения гидролизатов для микробиологических сред, имеет высокую энергетическую ценность. Средняя степень гидролиза белковой компоненты этого осадка близка к таковой кормового гидролизата – 25 и 17% соответственно. Среди свободных аминокислот этих компонентов преобладают аргинин, лизин, глицин, лейцин и изолейцин, таурин. Содержание свободных аминокислот также весьма близко – 9,8 и 10,1% – для кормового гидролизата и осадка после глубокого гидролиза соответственно.

Контроль микробиологических показателей и анализ содержания ионов тяжелых металлов в полученных кормовых гидролизатах показал, что данные характеристики не превышают допустимых пределов.

Все это позволяет рекомендовать использовать остаток после глубокого гидролиза в качестве высокоэффективной кормовой добавки птицам и рыбам.

ЛИТЕРАТУРА

Бигжи А. И. Разработка технологии приготовления гидролизата без отделения непроферментированного белкового остатка из мелкой рыбы и создание рецептуры стартового комбикорма для молоди осетровых рыб:

Автореф. дисс. ... канд. техн. наук. – Калининград: Калининградский гос. техн. университет, 2000. – 24 с.

Влияние введения низкомолекулярных белковых компонентов в стартовые корма на выживаемость молоди атлантического лосося *Salmo solar* / **Мухин В. А., Новиков В. Ю., Лебская Т. К., Мухина И. Н.** // Рыбное хозяйство. Корма и кормление в аквакультуре. Аналитическая и реферативная информация. - 2001. - Вып. 3. - С. 1-12.

Гидролизаты рыбной муки в стартовых кормах для личинок сиговых рыб как ведущий фактор эффективности кормления / **Канидьев А. Н., Турецкий В. И., Пономарев С. В., Слободяникова Л. С., Латов В. К.** // Биологические основы рационального кормления рыб: Сб. научных трудов. - М., 1986. - Вып. 49. - С. 121-126.

ГОСТ 7636-85. Рыба, морские млекопитающие, морские беспозвоночные и продукты их переработки. Методы анализа. - М.: Изд-во стандартов, 1985. - 141 с.

Комаров Б. Д. Значение энтерального зондового питания для коррекции метаболических расстройств при неотложных состояниях // Энтеральное зондовое питание у больных с острой хирургической патологией. - М., 1982. - С. 3–16.

Кормление сельскохозяйственной птицы / **Агеев В.Н., Квиткин П.Н., Паньков О.Д., Синцорова О.Д.** // М.: Россельхозиздат, 1982. - 272 с.

Литвин Ф. Е. Коллагенолитические протеазы из гепатопанкреаса камчатского краба: выделение и свойства: Автореф. дисс. ... канд. биол. наук. - М., 1993. - 20 с.

Методика разделения смеси 23 свободных аминокислот методом двумерной тонкослойной хроматографии. - СПб: НПО «Ленхром», 1995. - 8 с.

Мухин В. А., Новиков В. Ю. Рекомендации по рациональному использованию отходов переработки акклиматизированного камчатского краба *Paralithodes camtschatica* // Камчатский краб в Баренцевом море (Результаты исследований ПИНРО в 1993–2000 гг.). - Мурманск: Изд-во ПИНРО, 2001. - С. 160-170.

Мухин В. А., Новиков В. Ю. Эффективность применения ферментативных белковых гидролизатов в кормах для птицы // Птицеводство. - 2002. - № 1 (в печати).

Мухин В. А., Новиков В. Ю., Рыжикова Л. С. Ферментативный белковый гидролизат из отходов промысла исландского гребешка *Chlamys islandica* // Прикладная биохимия и микробиология. - 2001. - Т. 37, № 3. - С. 338-343.

Новиков В. Ю., Мухин В. А. Использование растворов хитозана для обезжиривания и осветления белковых гидролизатов // Прикладная биохимия и микробиология. - 2001. - Т. 37, № 6. - С. 733-738.

Сахаров И. Ю. Выделение и исследование ферментов из морских организмов и некоторые аспекты их применения: Автореф. дисс. ... докт. хим. наук. - М., 1992. - 47 с.

Сравнительная физиология животных / в 3-х томах под ред. проф. Проссера Л. - Т. 1. - М.: «Мир», 1977. - С. 253-260.

Турецкий В. И., Ильина И. Д. Пищевые потребности личинок карпа в гидролизованных (деструктурированных) белковых продуктах // Тез. докл. Всесоюзн. совещ. по промышленному рыбоводству и проблемам кормов, кормопроизводства и кормления рыб. - М.: ВНИИПРХ, 1985. - С. 155-158.

Bouchez P., Azzi D. Biotechnology: Use of hydrolytic enzymes in preprocessing of feedstuffs. In: Cowey C. B., Cho C. Y. (Editors). Nutritional strategies and Aquaculture waste. - University of Guelph, Guelph - 1991, Ont. - P. 91-101.

Soluble fish protein in milk replacers for calves / **Jenkins K. J., Larmond E., Sauer F. D., Emmons D. B.** // Feedstuffs. - 1982. - Vol. 54, No. 1. - P. 24-25.