

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **036692**(13) **B1**

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ

(45) Дата публикации и выдачи патента
2020.12.08

(51) Int. Cl. *A23L 33/17* (2016.01)

(21) Номер заявки
201700336

(22) Дата подачи заявки
2015.12.30

(54) КОМПОЗИЦИЯ, ВКЛЮЧАЮЩАЯ ХИТИН И ПЕРЕВАРИМЫЕ БЕЛКИ

(31) **1463512; 1560013**

(32) **2014.12.31; 2015.10.20**

(33) **FR**

(43) **2017.11.30**

(86) **PCT/FR2015/053784**

(87) **WO 2016/108036 2016.07.07**

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
ИНСЕКТ (FR)

(72) Изобретатель:
**Арменъон Бенжамин, Березина
Натали, Лоран Софи, Убер Антуан,
Сокольски Сесилия, Санчез Лорена
(FR)**

(74) Представитель:
Ермакова Е.А. (RU)

(56) Anonymous: "Insects for food and feed", Food and Agricultural Organization of the United Nations, 14 January 2014 (2014-01-14), page 1, XP002757258, Retrieved from the Internet: URL: <http://www.fao.org/edible-insects/84625/en/> [retrieved on 2016-05-03], *Paragraph 1*

Hervé Guénot: "Des insectes dans la farine", JDD Paris, 19 December 2012 (2012-12-19), pages 1-2, XP002757230, Retrieved from the Internet: URL: <http://www.lejdd.fr/JDD-Paris/Actualite/Des-insectes-dans-la-farine-581928> [retrieved on 2016-05-02], *page 1, paragraphe 2*

CN-A-1297691

CN-B-101144097

CN-A-101292737

CN-A-101116471

(57) Изобретение относится к композиции, включающей как минимум 67 мас.% сырых белков, как минимум 5 мас.% хитина, причем процентные содержания по массе указаны по отношению к общей массе композиции, и 85 мас.% переваримых белков по отношению к общей массе сырых белков. Изобретение также относится к способу приготовления такой композиции, а также ее применению в продуктах питания человека или животных.

B1

036692

036692

B1

Настоящее изобретение относится к композиции, включающей белки и хитин. Оно также относится к способу приготовления данной композиции и ее использованию в продуктах питания человека или животных, в частности в корме для рыбы.

В настоящее время рыбоводческое хозяйство является одной из наиболее динамично развивающихся отраслей пищевой промышленности. Большой спрос на рыбу привел к значительному увеличению цены корма, необходимого для разведения рыбы.

Одним из наиболее употребимых продуктов в корме для рыбы является рыбная мука. В действительности, рыбная мука - это один из основных источников белков в кормах рыбоводческого хозяйства. Эта мука очень богата животными белками (с высоким содержанием аминокислот, таких как лизин и метионин), которые легко усваиваются. Растущий спрос вместе с ограниченным предложением привел к существенному повышению ее цены, тем самым представляя риск для устойчивого роста рыбоводческого хозяйства. Таким образом, наблюдается высокий спрос на альтернативные источники высококачественных и, насколько это возможно, восстанавливаемых белков для кормов рыбоводческого хозяйства.

Мука из насекомых является естественным замещающим источником белков и предусматривает возможность массового производства с минимальным экологическим воздействием. В частности, некоторые насекомые, такие как *Tenebrio molitor*, имеют преимущество того, что их можно использовать для интенсивного массового производства корма.

Тем не менее, результаты испытаний по замене рыбной муки различными типами муки из насекомых неоднозначны. В случае возможности такой замены она обычно не превышает 50%, а ее эффект неблагоприятен для роста рыбы, за которой ведется наблюдение при превышении данного содержания.

В своей работе изобретатели показали, что в качестве замены рыбной муки в кормах рыбоводческого хозяйства можно успешно использовать особую композицию.

Таким образом, настоящее изобретение относится к композиции, включающей как минимум 67 мас.% сырых белков, как минимум 5 мас.% хитина, причем процентные содержания по массе указаны по отношению к общей массе композиции и 85 мас.% переваримых белков по отношению к общей массе сырых белков.

Следует отметить, что в рамках настоящего изобретения, если не предусмотрено иное, диапазоны приведенных значений считаются исчерпывающими.

Количественное определение "сырых белков" хорошо известно специалисту в данной области техники. В качестве примера можно привести метод Дюма или метод Кьельдаля. Предпочтительно используется метод Дюма, соответствующий стандарту NF EN ISO 16634-1 (2008).

Если в изобретении для какой-либо нормы, стандарта или директивы не указана дата, то подразумевается норма, стандарт или директива, действующая(ий) на дату подачи заявки на данное изобретение.

Композиция включает предпочтительно 68 мас.% сырых белков, более предпочтительно 70 мас.% сырых белков, причем процентные содержания по массе указаны по отношению к общей массе композиции.

Под "переваримыми белками" подразумеваются переваримые белки, определяемые по перевариваемости пепсином. Количественное определение переваримых белков предпочтительно осуществляется по методу, описанному в Директиве 72/199/ЕС.

Композиция включает предпочтительно 86%, более предпочтительно 88 мас.% переваримых белков по отношению к общей массе сырых белков.

В соответствии с настоящим изобретением "хитин" означает любой тип производного хитина, т.е. любой тип производного полисахарида, включающего единицы N-ацетилглюкозамина и D-глюкозамина, в частности сополимеры хитина/полипептидов (иногда называется "соединением хитина/полипептидов"). Эти сополимеры также могут совмещаться с пигментами, например с меланином.

Хитин является вторым наиболее часто встречающимся синтетическим полимером в живом мире после целлюлозы. По сути, хитин синтезируется многими биологическими видами: он входит в состав наружного скелета ракообразных и насекомых, а также боковой стенки, которая окружает и защищает грибы. Конкретнее, у насекомых хитин составляет от 3 до 60% их наружного скелета.

Содержание хитина определяется путем его экстрагирования. Такой метод может быть представлен методом АОАС 991.43, описанным в примере 2, и является предпочтительным методом определения.

Композиция включает предпочтительно от 5 до 16 мас.% хитина, более предпочтительно от 8 до 14% хитина, причем процентные содержания по массе указаны по отношению к общей массе композиции.

Композиции известного уровня техники, которые могут содержать и белки, и хитин, зачастую являются композициями, полученными из насекомых и/или ракообразных. Однако высокие содержания сырых белков и переваримых белков в композиции по настоящему изобретению могут быть получены только по методу обработки насекомых и/или ракообразных, включающему этап гидролиза. Этап гидролиза сокращает содержание хитина до уровня порядка 5 мас.%, например менее 5 мас.%, по отношению к общей массе композиции.

В настоящее время хитин зачастую считают своего рода антипитательным фактором, так как он тяжело переваривается. Это объясняет, почему для применения в агропищевой отрасли из композиций на

основе насекомых удаляется хитин, т.е. проводится этап удаления хитина. В своей работе изобретатели также продемонстрировали, что вопреки распространенным представлениям хитин не влияет на рост рыбы, которой в качестве корма дают композицию по настоящему изобретению со значительным содержанием хитина (см. пример 4 ниже). Напротив, композиция по настоящему изобретению может не только частично, но и полностью заменить рыбную муку в кормах рыбоводческого хозяйства. Фактически, композиция по настоящему изобретению позволяет увеличить рост животных, которых кормят ею.

Более того, в процессе производства корма внедрение композиции по настоящему изобретению также имеет определенные преимущества: снижение потерь водорастворимых витаминов при дополнительной термообработке и сокращение энергии, необходимой на дополнительном этапе экструзии.

Композиция по настоящему изобретению имеет влажность от 2 до 15%, предпочтительно от 5 до 15%, более предпочтительно от 6 до 8%. К примеру, влажность можно определять по методу, описанному в Регламенте ЕС 152/2009 от 27.01.2009 (103°C/4 ч).

Композиция по настоящему изобретению имеет зольность предпочтительно не более 4 мас.% по отношению к общей массе композиции и более предпочтительно не более 3,5%.

Зола представляет собой остаток после сгорания композиции по настоящему изобретению.

Метод определения зольности хорошо известен специалисту в данной области техники. Зольность предпочтительно определяется по методу, изложенному в Регламенте ЕС 152/2009 от 27.01.2009.

Содержание жира в композиции по настоящему изобретению предпочтительно составляет от 5 до 20 мас.% по отношению к общей массе композиции, более предпочтительно от 9 до 17%.

Методы определения содержания жира хорошо известны специалисту в данной области техники. В качестве примера и в предпочтительном варианте содержание жира будет определяться по методу в Регламенте ЕС 152/2009.

Как указано выше, композицию по настоящему изобретению можно получать из насекомых.

В частности, под выражением "полученная из насекомых" подразумевается композиция, полученная только из насекомых с добавлением воды. Композицию готовят путем механической и термообработки, за исключением химической обработки (не водой) насекомых.

Конкретнее, композиция является мукой из насекомых. Под "мукой из насекомых" подразумевается порошок с размером частиц, приемлемым для продуктов питания человека или животных. "Размер частиц, приемлемый для продуктов питания человека или животных" означает размер частиц от 100 мкм до 1,5 мм, предпочтительно от 300 мкм до 1 мм, более предпочтительно от 500 до 800 мкм.

Насекомые, которые предпочтительны для приготовления такой муки, являются следующими: жесткокрылые (Coleoptera), двукрылые, чешуекрылые, термиты, прямокрылые, перепончатокрылые, таракановые, полужесткокрылые, клопы, подёнки и скорпионницы, предпочтительно жесткокрылые, двукрылые, прямокрылые, чешуекрылые или их комбинации.

Предпочтительно, насекомых выбирают из группы, включающей *Tenebrio molitor*, *Hermetia illucens*, *Galleria mellonella*, *Alphitobius diaperinus*, *Zophobas morio*, *Blattella fusca*, *Tribolium castaneum*, *Rhynchophorus ferrugineus*, *Musca domestica*, *Chrysomya megacephala*, *Locusta migratoria*, *Schistocerca gregaria*, *Acheta domesticus*, *Samia ricini* или их комбинаций, и более предпочтительно *Tenebrio molitor*.

Предпочтительно композиция по настоящему изобретению включает от 35 до 65 мас.% растворимых белков по отношению к общей массе сырых белков, и как минимум 50% растворимых белков имеют размер не более 12,400 г/моль.

"Растворимые белки", помимо сырых белков, означают те белки, которые растворимы в водном растворе с pH от 6 до 8, предпочтительно от 7,2 до 7,6.

Водный раствор предпочтительно представлен буферным раствором с pH от 6 до 8, предпочтительно от 7,2 до 7,6. Предпочтительно буферный раствор является фосфатно-буферным раствором NaCl с pH 7,4±0,2.

Перевариваемость белков у людей и животных по большей части обусловлена размером белков. В кормах для животных необходимо уменьшать размер белков, чтобы способствовать их перевариванию. Такое уменьшение размера белков обычно выполняется с помощью процессов гидролиза (например, ферментативный гидролиз), которые являются очень дорогостоящими.

Композиция по настоящему изобретению, полученная в процессе без гидролиза, включает большое количество растворимых белков, размер которых существенно уменьшен для переваривания животными. Еще одно преимущество композиции по настоящему изобретению заключается в том, что ее приготовление более экономичное.

Композиция по настоящему изобретению включает от 30 до 60 мас.%, предпочтительно от 35 до 55 мас.% растворимых белков по отношению к общей массе сырых белков.

Как минимум 60%, предпочтительно как минимум 70% растворимых белков имеют размер не более 12,400 г/моль.

Конкретнее, растворимые белки имеют размер от 6,500 до 12,400 г/моль.

Менее 10%, предпочтительно менее 8%, более предпочтительно менее 5% и еще более предпочтительно 0% растворимых белков имеют размер не менее 66,000 г/моль.

Такое распределение растворимых белков показано в примере 6.

Здесь также раскрыт способ приготовления композиции по настоящему изобретению.

Способ приготовления композиции по настоящему изобретению включает этап прессования насекомых.

Цель прессования состоит в обезжиривании насекомых и, таким образом, получении жмыха с содержанием масла (или жира) не более 20 мас.% по отношению к сухой массе жмыха, предпочтительно не более 17%.

Этап прессования более подробно описан на этапе 2 способа приготовления, изложенном ниже.

В частности, можно выполнять горячее или холодное прессование. Предпочтительно используется одношнековый пресс.

Конкретнее, способ приготовления по настоящему изобретению включает следующие этапы:

- i) умерщвление насекомых;
- ii) прессование насекомых для получения жмыха;
- iii) измельчение жмыха.

Насекомых можно умерщвлять путем обваривания или бланширования, как более подробно описано на этапе 1 данного способа.

Аналогичным образом, измельчение более подробно описано на этапе 4 данного способа.

В заключение необходимо отметить, что способ приготовления по настоящему изобретению также может включать сушку жмыха.

Этап сушки предпочтительно выполняется после этапа прессования и перед этапом измельчения.

Сушка более подробно описана на этапе 3 данного способа.

Подробное описание способа приготовления композиции по настоящему изобретению

Этап 1. Умерщвление насекомых.

Данный этап умерщвления 1 может успешно выполняться путем обваривания или бланширования. Этап 1 позволяет умерщвлять насекомых, одновременно сокращая микробиологическую нагрузку (сокращение риска порчи и риска для здоровья) и инактивируя внутренние ферменты насекомых, которые могут вызывать автолиз и, следовательно, их быстрое потемнение.

При обваривании насекомые, предпочтительно личинки, обвариваются в воде в течение 2-20 мин, предпочтительно 5-15 мин. Вода имеет температуру от 95 до 105°C, предпочтительно 100°C.

Количество воды, используемой при обваривании, определяется следующим образом: отношение объема воды в мл к массе в г насекомого составляет предпочтительно от 0,3 до 10, более предпочтительно от 0,5 до 5, еще более предпочтительно от 0,7 до 3 и в самом предпочтительном варианте порядка 1.

При бланшировании насекомые, предпочтительно личинки, бланшируются паром (паровые сопла или канал) при температуре от 80 до 130°C, предпочтительно от 90 до 120°C, более предпочтительно от 95 до 105°C, предпочтительно 98°C, или водой при температуре от 95 до 105°C, предпочтительно 100°C (распылителями), или в смешанном режиме (вода + пар) при температуре от 80 до 130°C, предпочтительно от 90 до 120°C, более предпочтительно от 95 до 105°C, предпочтительно 98°C. Время выдерживания в бланшировочной камере составляет от 1 до 15 мин, предпочтительно от 3 до 7 мин.

Дополнительный этап. Измельчение.

Насекомые извлекаются из шпарильного чана или бланшировочной камеры, затем просеиваются (или сушатся) и помещаются в измельчитель, такой как ножевая дробилка, что позволяет размолоть их на частицы.

Для упрощения измельчения можно добавить определенное количество воды. Данное количество воды аналогично тому, которое используется на этапе 1 обваривания: отношение объема воды в мл к массе в г насекомого составляет предпочтительно от 0,3 до 10, более предпочтительно от 0,5 до 5, еще более предпочтительно от 0,7 до 3 и в самом предпочтительном варианте порядка 1. Также для выполнения данного этапа можно сохранить воду для обваривания и/или воду после бланширования.

Предпочтительно по завершении измельчения размер частиц насекомых составляет менее 1 см (наибольший размер частиц, который можно наблюдать в микроскопе), предпочтительно менее 0,5 см. Размер частиц составляет предпочтительно от 300 мкм до 3 мм, более предпочтительно от 500 мкм до 1 мм. Необязательно сверх меры уменьшать размер частиц, например, до размера менее 250 мкм.

Этап 2. Прессование.

Насекомые, полученные после этапа умерщвления 1, или влажная масса после дополнительного этапа измельчения затем помещаются в пресс по процедуре, которая позволяет спрессовать и отделить экстракт, включающий фракцию жиров и фракцию белков.

Этап прессования позволяет получить жмых с содержанием масла не более 20 мас.% по отношению к сухой массе жмыха, предпочтительно не более 17%, более предпочтительно не больше 15%.

Аналогичным образом, этап прессования дает возможность получить жмых с содержанием сухого вещества от 30 до 60%, предпочтительно от 40 до 55% и еще более предпочтительно от 45 до 55%.

Для осуществления этапа прессования может использоваться любая система прессования, например одношнековый или двухшнековый пресс (двухшнековый пресс производства Angel), фильтр-пресс (фильтр-пресс производства Choquenot), плиточный пресс и т.д. Данные системы хорошо известны специалистам в данной области техники, который может определить условия прессования, чтобы получить

содержание масла и/или воды, указанное выше.

В частности, можно выполнять горячее или холодное прессование. Предпочтительно прессование будет осуществляться в горячем режиме, что позволит увеличить обезжиривание жмыха. Кроме того, горячее прессование позволяет получить жмых с содержанием масла не более 17 мас.% по отношению к сухой массе жмыха, предпочтительно не более 15%.

Этап 3. Сушка.

Впоследствии жмых сушится посредством стандартных методик, известных специалисту в данной области техники. Сушка может быть прямой или контактной (устройство сушки в тонком слое, "лопастная сушилка", "трубчатая сушилка", "дисковая сушилка" и т.д.) при температуре от 60 до 200°C в течение от 15 мин до 24 ч. Для примера, жмых может размещаться и сушиться под вентилируемым/вихревым потоком воздуха при температуре от 80 до 100°C, предпочтительно при 90°C в течение от 3 до 7 ч, предпочтительно 5 ч.

Цель настоящего этапа сушки состоит в получении жмыха с влажностью от 2 до 15%, предпочтительно от 5 до 10% и еще более предпочтительно от 4 до 8%.

Этап 4. Конечное измельчение.

Высушенный жмых помещается в измельчитель, такой как молотковая дробилка, что позволяет размолоть жмых на частицы.

Предпочтительно по завершении данного конечного измельчения размер частиц насекомых составляет менее 0,5 см (наибольший размер частиц, который можно наблюдать в микроскопе), предпочтительно порядка 1 мм. Конкретнее, размер частиц составляет от 300 мкм до 1 мм, еще более предпочтительно от 500 до 800 мкм.

Последовательность этих четырех этапов дает возможность получить композицию по настоящему изобретению, включающую большое количество сырых и перевариваемых белков, в то же время подерживая содержание хитина на уровне как минимум 5 мас.% по отношению к общей массе композиции.

Как указано выше, этап прессования может выполняться в холодном или горячем режиме.

В качестве примера можно привести способ получения композиции по настоящему изобретению, включающий холодное прессование:

Личинки, например *T. molitor*, вводятся в лабораторный стакан с 200 мл воды, заблаговременно доведенной до кипения, и умерщвляются путем обваривания в водяной бане при 100°C. Через 5 мин лабораторный стакан извлекается из водяной бани, личинки сушатся, а затем смешиваются с водой в объеме 200 мл. Полученная жидкость проходит в двухшнековый пресс. Полученный жмых сушится в течение 24 ч в печи при 70°C, а затем измельчается до 250 мкм.

В качестве примера можно привести способ получения композиции по настоящему изобретению, включающий горячее прессование:

Личинки, например *T. molitor*, вводятся в бланшировочную камеру и бланшируются паром в течение 5 мин при 100°C. После бланширования личинки вводятся в "отжимной" пресс, пригодный для водосодержащих продуктов. Полученный жмых сушится в течение 5 ч в печи при 90°C, а затем измельчается в молотковой дробилке до 1 мм.

Предпочтительно способ приготовления композиции по настоящему изобретению включает следующие этапы:

- i) умерщвление насекомых;
- ii) прессование насекомых для получения жмыха;
- iii) сушка жмыха;
- iv) измельчение жмыха.

Согласно первому варианту осуществления способа по настоящему изобретению, этапу прессования предшествует этап измельчения насекомых.

Таким образом, настоящее изобретение относится к способу приготовления композиции по настоящему изобретению, включающему следующие этапы:

- i) умерщвление насекомых;
- ii) прессование насекомых для получения жмыха;
- iii) сушка жмыха;
- iv) измельчение жмыха,

при этом этапу прессования предшествует этап измельчения насекомых.

Преимущество этапа измельчения насекомых перед прессованием более подробно описано в примере 5.

Согласно второму варианту осуществления способа по настоящему изобретению, этап прессования насекомых выполняется в горячем режиме.

Таким образом, настоящее изобретение относится к способу приготовления композиции по настоящему изобретению, включающему следующие этапы:

- i) умерщвление насекомых;
- ii) прессование насекомых для получения жмыха;
- iii) сушка жмыха;

iv) измельчение жмыха,

при этом этап прессования выполняется в горячем режиме. Как указано выше, горячее прессование позволяет получить жмых с содержанием масла не более 17 мас.% по отношению к сухой массе жмыха, предпочтительно не более 15%.

Согласно третьему варианту осуществления способа по настоящему изобретению, этап измельчения жмыха выполняется до достижения размера частиц от 300 мкм до 1 мм, предпочтительно от 500 до 800 мкм.

Таким образом, настоящее изобретение относится к способу приготовления композиции по настоящему изобретению, включающему следующие этапы:

- i) умерщвление насекомых,
- ii) прессование насекомых для получения жмыха,
- iii) сушка жмыха, и
- iv) измельчение жмыха,

при этом этап измельчения жмыха выполняется до достижения размера частиц от 300 мкм до 1 мм.

Конкретнее, согласно третьему варианту осуществления способа по настоящему изобретению, этап прессования насекомых может выполняться в горячем режиме. Как вариант, этапу прессования может предшествовать этап измельчения насекомых.

В заключение следует отметить, что данное изобретение относится к использованию композиции по настоящему изобретению в продуктах питания человека или животных.

Предпочтительно композиция по настоящему изобретению может использоваться в корме для домашних животных, таких как собаки, кошки, птицы, рыбы, рептилии и грызуны.

В частности, композиция по настоящему изобретению может использоваться в рыбоводческом хозяйстве (рыба, ракообразные, моллюски, устрицы), корме для домашней птицы (куры, индейки, дичь, такая как перепелки, фазаны, дрофы) и норки.

Вдобавок ко всему, композиция по настоящему изобретению может успешно использоваться в качестве замены белковой муки.

В частности, под белковой мукой подразумевается рыбная мука, сухое молоко или сухая молочная сыворотка, концентрированный соевый белок ("КСБ"), мясная мука, например, куриная мука.

Замена может быть частичной или полной.

Предпочтительно композиция по настоящему изобретению используется для частичной или полной замены рыбной муки, например 50 или 100% замена.

Другие признаки и преимущества настоящего изобретения будут ясны из следующих примеров, представленных для наглядности со ссылкой на фигуры:

фиг. 1 является схемой колебания температуры воды и уровней кислорода, растворенного в резервуарах, где выращивается форель, которую кормят разными дозами композиции по настоящему изобретению;

фиг. 2 включает две схемы, показывающие воздействие на конечную живую массу (фиг. 2A) и кормовой коэффициент перевода (фиг. 2B) форели, которую кормят разными дозами композиции по настоящему изобретению;

фиг. 3 показывает распределение липидов из насекомых в экстракте и жмыхе, полученных по способу, включающему этап прессования или этап измельчения и последующего прессования;

фиг. 4 является схемой, представляющей пространственно-эксклюзионную хроматографию размера белков в композиции по настоящему изобретению.

Пример 1. Способ приготовления композиции по настоящему изобретению.

Композиция по настоящему изобретению готовится из личинок *Tenebrio molitor*. По получении личинок их можно хранить при температуре 4°C от 0 до 15 дней в их выростном резервуаре без значительной порчи до их умерщвления. Масса (возраст) личинок переменна и в результате их композиция могут варьироваться, как приведено в табл. 1.

Таблица 1

Биохимическая композиция личинок *Tenebrio molitor* в соответствии с их массой

Биомасса (насекомые)	мг	23	35	58	80	108	154
Сухое вещество	%*	34	34	34,2	37,9	39,6	39,5
Зола	%*	1,59	1,52	1,6	1,75	1,67	1,43
Сырые белки	%*	22,6	22,2	22	23,2	23,1	23,2
Липиды	%*	6,62	6,88	7,98	10,3	10,9	11,7

* % выражается как отношение массы личинок в сухом состоянии к их массе во влажном состоянии.

Этап 1. Бланширование насекомых.

Живые личинки (при температуре от 4 до 25°C) подаются слоями толщиной от 2 до 10 см на перфорированной транспортной ленте (1 мм) в бланшировочную камеру. Таким образом, насекомые блан-

шируются паром (паровые сопла или канал) при температуре 98°C или водой при 100°C (распылители) или в смешанном режиме (вода + пар). Время выдерживания в бланшировочной камере составляет от 1 до 15 мин. Идеальный вариант - 5 мин.

Температура личинок после бланширования составляет от 75 до 98°C.

Этап 2. Прессование.

После бланширования личинки подаются в загрузочный бункер одношнекового пресса. При прохождении через пресс личинки выдерживаются при температуре выше 70°C для увеличения выхода жира. Принцип обезжиривания заключается в сдавливании материала в цилиндрической клетке посредством компоновки шнеков и колец на центральном валу. Клетка изнутри облицована рейками, разделенными на секции и расположенными на разном расстоянии друг от друга в зависимости от рабочего участка. Промежуток между элементами, скомпонованный таким образом, позволяет пропускать поток фракции масла/жира, в то же время ограничивая пропускание так называемого "сухого" вещества, белковой фракции, которая называется "жмыхом", являясь частью процесса прессования. Выход от прессования составляет от 48 до 55%.

$$Y_{\text{жмых}} = (\text{масса}_{\text{жмых}} / \text{масса}_{\text{экстракт}} + \text{масса}_{\text{жмых}}).$$

В получаемом жмыхе содержится от 35 до 40% сухого вещества, от 67 до 75% белков и от 13 до 17% жиров. Процентное соотношение по массе получают в соотношении с массой жмыха в сухом состоянии.

Этап 3. Сушка.

После этого жмых укладывается на лоток тонким слоем (приблизительно 2 см) и высушивается вентилируемым/вихревым потоком воздуха при температуре 90°C в течение 5 ч для получения жмыха с содержанием сухого вещества более 90%.

На данном этапе становится возможным обеспечение защиты от загрязнения, которое произошло с момента умерщвления.

Водная активность (A_w) после сушки составляет 0,35. Результаты микробиологического анализа показывают отсутствие *Salmonella* spp (способ: IRIS *Salmonella* BKR 23/07-10/11), а содержание энтеробактерий составляет менее 10 КОЕ/г (способ: NF ISO 2128-2, декабрь 2004 г., 30 и 37°C).

Этап 4. Измельчение.

Высушенный жмых, в основном состоящий из белков, в конечном итоге измельчается в молотковой дробилке непрерывного действия (6 реверсивных подвижных частей толщиной 8 мм). Подача в дробилку осуществляется через бункер с заслонкой регулировки подачи (180 кг/ч). Размер ячейки перфорированной решетки для регулировки гранулометрии на выходе составляет 0,8 мм. Скорость вращения двигателя составляет 3000 об/мин (электрический привод, поглощаемая мощность 4 кВт (5,5 Кл/В)).

Пример 2. Исследование композиции по настоящему изобретению.

Композиция, приготовленная в примере 1, была исследована.

1. Анализы.

1.1. Определение влажности.

Влажность определяется по методу, описанному в Регламенте ЕС 152/2009 от 27.01.2009 (103°C/4 ч).

1.2. Определение содержания сырых белков.

Содержание сырых белков определяется методом Дюма и в соответствии со стандартом NF EN ISO 16634-1 (2008).

1.3. Определение содержания хитина.

Пищевые волокна в муке из насекомых в основном состоят из хитина. Последнее было проверено по методу АОАС 991.43. В результате полученные таким образом значения были преувеличенными.

1.4. Определение содержания жиров.

Содержание жиров было определено по методу, изложенному в Регламенте ЕС 152/2009.

1.5. Определение содержания золы.

Содержание сырой золы было определено по методу, изложенному в Регламенте ЕС 152/2009 от 27.01.2009.

1.6. Определение содержания фосфора.

Содержание фосфора проверяется посредством ИСП (индуктивно связанная плазма) с внутренней калибровкой.

1.7. Определение энергетической ценности.

Значение энергетической ценности получается с помощью коэффициентов, изложенных в Регламенте ЕС 1169/201.

1.8. Определение содержания аминокислот и жирных кислот.

Настоящее определение было выполнено посредством газовой хроматографии после проведения гидролиза и дериватизации аминокислот и жирных кислот соответственно.

1.9. Определение перевариваемости пепсина.

Перевариваемость пепсина измеряется по методу, описанному в Директиве 72/199/ЕС.

2. Результаты.

Композиция по настоящему изобретению приведена в табл. 2.

Таблица 2

Композиция

Питательный макроэлемент	Ед. изм.	Композиция
Влажность	%*	5,32
Белок	%*	67,09
Хитин	%*	8,0
Жир	%*	13,6
Зола	%*	3,21
Суммарный фосфор	%*	0,75
Энергетическая ценность	МДж/кг	23,74

Аминокислоты	Ед. изм.	Композиция
Аргинин	%*	2,56
Гистидин	%*	1,39
Изолейцин	%*	2,11
Лейцин	%*	3,99
Лизин	%*	3,32
Треонин	%*	1,87
Валин	%*	2,91
Метионин	%*	1,43
Цистеин	%*	0,63
Фенилаланин	%*	1,98
Тирозин	%*	2,68
Таурин	%*	0,42
Аспарагиновая кислота + аспарагин	%*	4,51
Глутаминовая кислота + глутамин	%*	6,36
Аланин	%*	3,83
Глицин	%*	2,54
Пролин	%*	3,18
Серин	%*	2,94

Жирные кислоты	Ед. изм.	Композиция
C12:0	%*	0,03
C14:0	%*	0,22
C15:0	%*	0,01
C16:0	%*	1,33
C16:1	%*	0,05
C16:1n-7	%*	0,16
C17:0	%*	0,02
C17:1	%*	0,01
C18:0	%*	0,35
C18:1n-9	%*	3,03
C18:1n-7	%*	0,04
C18:2n-6	%*	2,96
C18:2tn-6	%*	0,02
C18:3n-3	%*	0,14
C20:0	%*	0,02
C20:1n-9	%*	0,01
C20:2n-6	%*	0,01
C22:0	%*	0,01

* Процентные соотношения по массе выражаются относительно общей массы композиции.

Кроме того, достигается перевариваемость пепсина $90 \pm 2\%$.

Пример 3. Альтернативный способ приготовления композиции по настоящему изобретению.

200 г личинок *T. molitor* насыпаются в лабораторный стакан, помещаются в водяную баню при температуре 100°C , в которой содержится 200 мл ранее вскипяченной воды. Через 5 мин стакан извлекается из водяной бани, личинки высушиваются, после чего смешиваются с 200 мл воды. Полученная жидкость проходит в пресс двухшнекового типа. Полученный жмых сушится в течение 24 ч в печи при 70°C , а затем измельчается до 250 мкм. Таким образом, получается композиция по настоящему изобретению.

Пример 4. Ввод композиции по настоящему изобретению в корм для рыб.

В настоящем примере было изучено влияние введения композиции по настоящему изобретению в корм на рост, потребление корма, его конверсию, состав тела и видимую перевариваемость питательных элементов радужной форели.

1. Материалы и методы.

1.1. Композиция по настоящему изобретению.

Композиция, используемая в настоящем примере - композиция, полученная по примеру 1 и более подробно описанная в примере 2.

1.2. Экспериментальные рационы.

Рацион, основанный на рыбной муке (контрольный), был подобран из подходящих ингредиентов для соответствия пищевым потребностям молодой радужной форели. Данный контрольный рацион на 25% состоит из рыбной муки, на 8% - из других источников белка морского происхождения (мука из кальмара и криля), а остальные источники белка представляли собой концентрат соевого белка и кукурузной клейковины. На основании настоящей формулы были скомпонованы три проверочных рациона (Y5, Y7,5, Y15 и Y25), в которых рыбная мука была заменена на композицию по настоящему изобретению в соответствующих пропорциях: 20, 30, 60 и 100% (см. табл. 3).

Таблица 3

Составление формул и композиций экспериментальных рационов

Ингредиенты в %*	Контроль ный	Y5	Y7,5	Y15	Y25
Рыбная мука LT70 ¹	25,00	20,00	17,50	10,00	0,00
Мука из криля ²	3,00	3,00	3,00	3,00	3,00
Мука из кальмара ³	5,00	5,00	5,00	5,00	5,00
Композиция по настоящему изобретению		5,00	7,50	15,00	25,00
Концентрат соевых белков ⁴	14,00	14,00	14,00	14,00	14,00
Пшеничная клейковина ⁵	9,05	9,25	9,40	9,65	10,10
Кукурузная клейковина ⁶	8,20	8,20	8,20	8,20	8,20
Соевая мука 48	7,50	7,50	7,50	7,50	7,50
Цельный горох	6,15	5,75	5,40	4,75	3,70
Рыбий жир	11,50	11,50	11,50	11,50	11,50
Рапсовое масло	6,00	5,80	5,70	5,40	5,00
Предварительно приготовленная смесь витаминов и минералов ⁷	1,50	1,50	1,50	1,50	1,50
Соевый лецитин	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
Гуаровая смола	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20
Антиоксидант	0,20	0,20	0,20	0,20	0,20
Пропионат натрия	0,10	0,10	0,10	0,10	0,10
Монокальцийфосфат	1,30	1,70	2,00	2,60	3,50
DL-метионин	0,30	0,30	0,30	0,40	0,50
Оксид иттрия ⁸	0,02	0,02	0,02	0,02	0,02
Сухое вещество (СВ), %*	93,4 ± 0,0	93,1 ± 0,0	93 ± 0,1	95,0 ± 0,0	93,2 ± 0,0
Сырой белок, % СВ**	48,5 ± 0,0	48,5 ± 0,1	48,5 ± 0,0	48,5 ± 0,0	48,5 ± 0,1
Сырые жиры, % СВ**	22,7 ± 0,2	22,7 ± 0,1	22,6 ± 0,2	22,7 ± 0,2	22,7 ± 0,2
Зола, % СВ**	9,4 ± 0,0	8,8 ± 0,0	8,7 ± 0,1	8,1 ± 0,0	7,4 ± 0,0
Хитин, % СВ**	0,06	0,46	0,66	1,26	2,06
Действительная энергетическая ценность, МДж/кг СВ	23,2 ± 0,2	23,2 ± 0,0	23,2 ± 0,0	23,2 ± 0,1	23,2 ± 0,1

* % сухого вещества по отношению к общей массе композиции.

** % массы в сухом состоянии по отношению к общей массе сухого вещества.

¹Мука из перуанского анчоуса LT70: 71% сырых белков (СВ), 11% сырых жиров (СЖ), EXALMAR, Перу;²Мука из криля: 61% СВ, 19% СЖ, Aker BioMarine Antarctic AS, Норвегия;³Super Prime без субпродуктов: 82% СВ, 3,5% СЖ, Sopropêche, Франция;⁴Soycomil P: 62% СВ, 0,7% СЖ, ADM, Нидерланды;⁵VITEN: 84,7% СВ, 1,3% СЖ, ROQUETTE, Франция;⁶Мука из кукурузной клейковины: 61% СВ, 6% СЖ, COPAM, Португалия;⁷PREMIX Lda, Португалия. Витамины (МЕ или мг/кг рациона): DL-альфа ацетат токоферола, 100 мг; бисульфит менадиона натрия, 25 мг; ретилацетат, 20000 МЕ; DL-холекальциферол, 2000 МЕ; тиамин, 30 мг; рибофлавин, 30 мг; пиридоксин, 20 мг; цианокобаламин, 0,1 мг; никотиновая кислота, 200 мг; фолиевая кислота, 15 мг; аскорбиновая кислота, 1 000 мг; инозитол, 500 мг; биотин, 3 мг; пантотенат кальция, 100 мг; холинхлорид, 1000 мг, бетаин, 500 мг. Минералы (г или мг/кг): карбонат кобальта, 0,65 мг; сульфат меди, 9 мг; сульфат железа, 6 мг; йодид калия, 0,5 мг; окись марганца, 9,6 мг; селенит натрия, 0,01 мг; сульфат цинка, 7,5 мг; хлорид натрия, 400 мг; карбонат кальция, 1,86 г; пшеничный наполнитель;⁸Оксид иттрия был введен исключительно в одну фракцию рациона, использованную для измерения перевариваемости.

Содержание муки из кальмаров и криля во всех рационах оставалось одинаковым для гарантии поедаемости. В формулу испытуемых рационов вносились мелкие изменения для поддержания изотопических (сырой белок, 48,5% СВ), изолипидных (22,7% СВ) и изоэнергетических условий (первичная энергетическая ценность, 23,2 МДж/кг СВ). Количество добавок метионина и монокальцийфосфата в испытуемые рационы изменялась для соответствия значениям, полученным в контрольном рационе.

Рационы производились экструзией (размеры гранул: 1,2-2,0 мм) на двухшнековом экструдере CLEXTRAL BC45 в лабораторном масштабе при диаметре шнека 55,5 мм и температурном диапазоне от 119 до 123°C. При проведении экструзии все партии экструдированных рационов были высушены в вращающейся сушилке с кипящим слоем (модель DR100, TGC Extrusion, Франция.) После охлаждения гранул посредством вакуумного напыления были добавлены масла (модель PG-10VCLAB, Dinnisen, Нидерланды). На протяжении испытания экспериментальные рационы хранились при температуре окружающей среды, но в прохладном, хорошо проветриваемом месте. Для анализа были отобраны образцы каждого рациона (табл. 4, 5).

Таблица 4

Аминокислотный профиль экспериментальных рационов					
Аминокислоты	Контрольный	Y5	Y7.5	Y15	Y25
Аргинин	4,62 ± 0,23	4,53 ± 0,02	4,49 ± 0,23	4,27 ± 0,09	3,89 ± 0,09
Гистидин	1,47 ± 0,11	1,56 ± 0,02	1,54 ± 0,09	1,46 ± 0,07	1,50 ± 0,08
Изолейцин	2,31 ± 0,01	2,52 ± 0,01	2,53 ± 0,01	2,46 ± 0,02	2,49 ± 0,00
Лейцин	4,51 ± 0,08	4,44 ± 0,01	4,68 ± 0,05	4,46 ± 0,02	4,56 ± 0,01
Лизин	3,09 ± 0,19	3,09 ± 0,01	3,02 ± 0,17	2,94 ± 0,01	2,97 ± 0,03
Треонин	2,32 ± 0,03	2,37 ± 0,00	2,31 ± 0,03	2,14 ± 0,05	2,15 ± 0,02
Валин	2,75 ± 0,00	2,87 ± 0,02	3,00 ± 0,03	3,08 ± 0,01	3,18 ± 0,01
Метионин	1,71 ± 0,15	1,71 ± 0,01	1,75 ± 0,06	1,74 ± 0,02	1,63 ± 0,02
Цистеин	0,35 ± 0,02	0,34 ± 0,00	0,31 ± 0,02	0,33 ± 0,00	0,34 ± 0,00
Фенилаланин	3,30 ± 0,00	3,06 ± 0,01	2,92 ± 0,15	2,85 ± 0,01	2,56 ± 0,00
Тирозин	2,44 ± 0,11	2,48 ± 0,00	2,67 ± 0,14	2,92 ± 0,04	3,14 ± 0,12
Таурин	0,20 ± 0,01	0,20 ± 0,00	0,21 ± 0,01	0,06 ± 0,00	0,04 ± 0,00

Содержание представлено в виде процентного содержания по массе по отношению к общей массе гранул перед сушкой.

Таблица 5

Обобщение жирно-кислотного профиля экспериментальных рационов.

Жирные кислоты	Контрольный	Y5	Y7.5	Y15	Y25
C14:0	0,40 ± 0,00	0,40 ± 0,00	0,38 ± 0,00	0,43 ± 0,00	0,38 ± 0,00
C16:0	1,86 ± 0,01	1,89 ± 0,01	1,82 ± 0,02	2,11 ± 0,01	1,94 ± 0,02
C16:1n-7	0,48 ± 0,00	0,48 ± 0,00	0,44 ± 0,00	0,50 ± 0,00	0,42 ± 0,01
C18:0	0,49 ± 0,00	0,50 ± 0,01	0,47 ± 0,01	0,54 ± 0,00	0,50 ± 0,01
C18:1n-9	1,62 ± 0,01	1,74 ± 0,01	1,69 ± 0,01	2,08 ± 0,01	2,06 ± 0,02
C18:1n-7	0,26 ± 0,00	0,25 ± 0,00	0,23 ± 0,00	0,25 ± 0,00	0,21 ± 0,00
C18:2n-6	0,79 ± 0,00	0,94 ± 0,01	1,05 ± 0,01	1,36 ± 0,01	1,53 ± 0,02
C18:3n-3	0,13 ± 0,00	0,13 ± 0,00	0,13 ± 0,00	0,14 ± 0,00	0,12 ± 0,00
C18:4n-3	0,10 ± 0,00	0,10 ± 0,00	0,09 ± 0,00	0,10 ± 0,00	0,08 ± 0,00
C20:1n-9	0,20 ± 0,00	0,19 ± 0,00	0,17 ± 0,00	0,18 ± 0,00	0,14 ± 0,00
C20:4n-6	0,14 ± 0,00	0,13 ± 0,00	0,12 ± 0,00	0,14 ± 0,00	0,12 ± 0,00
C20:5n-3	0,72 ± 0,00	0,71 ± 0,01	0,65 ± 0,00	0,70 ± 0,00	0,57 ± 0,01
C22:1n-11	0,14 ± 0,00	0,13 ± 0,00	0,11 ± 0,00	0,12 ± 0,00	0,08 ± 0,00
C22:5n-3	0,14 ± 0,00	0,13 ± 0,00	0,12 ± 0,00	0,13 ± 0,00	0,10 ± 0,00
C22:6n-3	1,45 ± 0,01	1,44 ± 0,01	1,33 ± 0,01	1,46 ± 0,01	1,21 ± 0,02

Содержание представлено как процентное содержание по массе по отношению к общей массе гранул перед сушкой.

1.3. Испытание для определения показателей роста.

Тройные группы из 35 особей радужной форели (*Oncorhynchus mykiss*) с начальной живой массой (НЖМ) 5,01±0,1 г получали один из пяти экспериментальных рационов в течение 90 дней. Рыба выращивалась в цилиндрических стекловолоконных резервуарах (объем: 250 л) с подачей непрерывного потока пресной воды при температурах 14,1±0,3°C и уровнях растворенного кислорода более 7,4 мг/л (см. фиг. 1). Рыба выдерживалась в летнем режиме с естественными изменениями светового дня. Рыбу кормили вручную до предполагаемого насыщения трижды в день (09:00, 14:00 и 18:00) в течение недели и дважды в день в выходные (10:00 и 16:00), максимально стараясь не расходовать корм впустую. Распределяемый корм подсчитывался на протяжении всего исследования. Особи рыбы в состоянии наркоза взвешивались по отдельности в начале и конце исследования, а группа взвешивалась в день 28 и день 60. В начале 15 особей рыбы из одного начального запаса были отобраны и хранились при -20°C для после-

дующего анализа состава тела. Через 90 дней экспериментального кормления 6 особей рыбы были отобраны из каждого резервуара для той же цели.

1.4. Измерение видимой перевариваемости.

В конце испытания для определения роста и после всех сопутствующих отборов проб 12 особей рыбы (живая масса: 45 г) из каждого идентичного резервуара использовались для определения видимой перевариваемости сухого вещества, белков, липидов, энергетической ценности и фосфора по косвенному методу с идентичными рационами, включающими оксид иттрия (200 мг/кг) в качестве инертного индикатора. Рыба хранилась в цилиндро-конических резервуарах (объем: 60 л; расход воды: 3,7 л/мин; уровни растворенного кислорода более 6,4 мг/л) при постоянной температуре воды 14°C. Рыба адаптировалась к режиму выращивания и экспериментальным рационам в течение более чем 10 дней. Затем рыбу кормили вручную раз в день (10:00) с небольшим избытком. После глубокой очистки выростных резервуаров для удаления всех остатков корма, экскременты собирались ежедневно в течение следующих 8 дней с помощью системы непрерывной фильтрации отходящей воды (система Шубера-INRA (Национальный институт сельскохозяйственных исследований Франции)). После ежедневного сбора экскременты заморозили при -20°C. Смешанные экскременты от каждой группы рыб подверглись лиофилизации перед анализом. Каждый рацион испытывался в трех повторах.

Коэффициенты видимой переваримости (КВП) питательных элементов и энергетической ценности корма в экспериментальных рационах рассчитывались по следующей формуле:

$$\text{КВП (\%)} = 100 - \left[\frac{\% \text{ конц. корма } Y_2O_3}{\% \text{ конц. экскрементов } Y_2O_3} \times \frac{\% \text{ энерг. ценности или пит. эл. в экскрементах}}{\% \text{ энерг. ценности или пит. эл. в корме}} \right]$$

1.5. Аналитические методы.

Испытуемые ингредиенты, рационы и лиофилизированные экскременты измельчались перед анализом. Пробы тела измельчались и смешивались, а репрезентативная проба подвергалась лиофилизации и гомогенизации с помощью лабораторной мельницы перед анализом. Анализ химического состава ингредиента,

рационов, экскрементов и самой рыбы проводился в рамках следующих процедур: получение сухого вещества после сушки при 105°C в течение 24 ч; получение золы путем сжигания при 550°C в течение 12 ч; получение сырого белка ($N \times 6,25$) по методу мгновенного сжигания, за которым следует разделение газовой хроматографией и измерение теплопроводности (LECO FP428); получение жира путем экстрагирования дихлорметаном (аппарат Сокслета); получение суммарного фосфора по методу ISO/DIS6491 с помощью ванадомолибденового реагента; определение первичной энергетической ценности в адиабатическом бомбовом калориметре. Оксид иттрия в кормах и экскрементах определялся по методу атомно-эмиссионной спектроскопии с индуктивно-связанной плазмой (ИСП-АЭС).

Для анализов общего содержания аминокислот испытуемые ингредиенты и проверочные рационы подвергались гидролизу (6 моль HCl при 116°C в течение 22 ч в стеклянных колбах, промытых азотом), а затем дериватизации фтористым реагентом AccQ (6-аминохинолил-N-гидроксисукцинимидил) по методу AccQ-Tag (компания Waters, США). Анализы осуществлялись путем высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) в системе обращенно-фазового аминокислотного анализа с использованием норвалина в качестве внутреннего стандарта. Триптофан не определялся, так как он частично уничтожается в ходе кислотного гидролиза. Полученные пики анализировались с помощью программного обеспечения EMPOWER (компания Waters, США). Для анализа жирных кислот липиды экстрагировались по методу Фольша и др. (1957), и впоследствии жирно-кислотный состав филе определялся путем анализа сложных метиловых эфиров газовой хроматографией по методу Лепажа-Роя (1986).

1.6. Критерий оценки роста и использования питательных элементов.

НЖМ (г): Начальная живая масса.

КЖМ (г): Конечная живая масса.

Удельный темп роста, УТР (%/день): $(\ln \text{ КЖМ} - \ln \text{ НЖМ}) \times 100$ дней.

Кормовой коэффициент перевода, ККП: общий кормовой рацион / прирост массы.

Самостоятельное потребление корма, СПК (% ЖМ/день): $(\text{общий кормовой рацион} / (\text{НЖМ} + \text{КЖМ}) / 2 \text{ дня}) \times 100$.

Коэффициент эффективности белка, КЭБ: прирост влажной массы/потребление сырых белков.

Удержание (% потребления): $100 \times (\text{КЖМ} \times \text{конечное содержание питательных элементов в теле} - \text{НЖМ} \times \text{начальное содержание питательных элементов в теле}) / \text{потребление питательных элементов}$.

1.7. Статистический анализ.

Данные представлены по среднему из трех повторов $\pm$ стандартное отклонение. Данные подверглись однофакторному дисперсионному анализу. Перед дисперсионным анализом значения в % подверглись арксинус-преобразованию квадратного корня. Статистическая значимость была проверена на уровне вероятности 0,05. Все статистические испытания выполнялись с помощью программного обеспечения IBM SPSS ver. 21.

2. Результаты.

2.1. Показатели роста

Данные о показателях роста, конверсии корма и эффективности белка у особей радужной форели, которые получали экспериментальные рационы в течение 28, 60 и 90 дней, представлены в табл. 6-8 и на фиг. 2. Случаи гибели во время испытания отсутствовали.

Таблица 6

Показатели роста в день 28

Рацион	Контрольный	Y5	Y7.5	Y15	Y25
НЖМ (г)	5,0 ± 0,1	4,9 ± 0,1	5,0 ± 0,1	5,1 ± 0,1	5,1 ± 0,1
ЮЖМ (г)	16,1 ± 0,1 ^a	16,2 ± 0,5 ^a	16,2 ± 0,5 ^a	17,9 ± 0,3 ^b	17,6 ± 0,4 ^b
УТР, %/день	4,19 ± 0,12 ^a	4,26 ± 0,13 ^a	4,20 ± 0,07 ^a	4,50 ± 0,07 ^b	4,45 ± 0,06 ^b
ККП	0,87 ± 0,01 ^b	0,87 ± 0,02 ^b	0,87 ± 0,03 ^b	0,81 ± 0,00 ^a	0,81 ± 0,01 ^a
Потребление корма, %					
ЖМ/день	3,27 ± 0,07	3,31 ± 0,09	3,28 ± 0,09	3,25 ± 0,03	3,22 ± 0,07
КЭБ	2,55 ± 0,02 ^a	2,56 ± 0,05 ^a	2,55 ± 0,08 ^a	2,66 ± 0,01 ^{ab}	2,72 ± 0,05 ^b

Значения являются средними ± стандартное отклонение (n=3).

Значения в строке с разными экспонентами существенно отличаются друг от друга (P<0,05).

Через 28 дней экспериментального кормления (табл. 5) начальная живая масса рыбы увеличилась более чем втрое. Потребление корма было высоким (3,22-3,31% ЖМ/день), и на него не повлияло (P>0,05) повышение доз композиции по настоящему изобретению. Данное наблюдение предполагает, что композиция по настоящему изобретению не имела отрицательного воздействия на поедаемость и даже что она могла бы компенсировать полное исключение рыбной муки без ущерба потреблению корма. Темп роста варьировался от 4,19 до 4,50%/день. По сравнению с контрольной обработкой, в то время как рационы Y5 и Y7.5 не повлияли на КЖМ и УТР, рационы Y15 и Y25 привели к значительному увеличению (P<0,05) КЖМ и УТР. Значения кормового коэффициента перевода варьируются от 0,81 до 0,87. По сравнению с контрольным рационом, включение композиции по настоящему изобретению при 5 и 7,5% (рационы Y5 и Y7,5%) не повлияло на ККП. Однако высокие уровни включения композиции по настоящему изобретению (рационы Y15 и Y25) привели к значительному снижению ККП (P<0,05). Коэффициент эффективности белка (КЭБ) варьировался от 2,55 до 2,72. У особей рыбы, которые получали рацион Y25, наблюдалось значительное увеличение КЭБ по сравнению с особями, которые получали контрольный рацион, а также рационы Y5 и Y7.5.

Таблица 7

Показатели роста в день 60

Рацион	Контрольный	Y5	Y7.5	Y15	Y25
НЖМ (г)	5,0 ± 0,1	4,9 ± 0,1	5,0 ± 0,1	5,1 ± 0,1	5,1 ± 0,1
ЮЖМ (г)	30,3 ± 0,1 ^a	31,6 ± 0,5 ^a	34,9 ± 1,5 ^b	37,2 ± 0,9 ^c	42,9 ± 0,4 ^d
УТР, %/день	3,00 ± 0,04 ^a	3,10 ± 0,04 ^b	3,24 ± 0,04 ^c	3,31 ± 0,05 ^c	3,57 ± 0,04 ^d
ККП	1,10 ± 0,03 ^d	1,02 ± 0,03 ^c	0,92 ± 0,01 ^b	0,90 ± 0,02 ^b	0,85 ± 0,02 ^a
КЭБ	2,01 ± 0,06 ^a	2,17 ± 0,06 ^b	2,40 ± 0,02 ^c	2,46 ± 0,06 ^{cd}	2,56 ± 0,07 ^d

Значения являются средними ± стандартное отклонение (n=3).

Значения в строке с разными экспонентами существенно отличаются друг от друга (P<0,05).

Через 60 дней экспериментального кормления (табл. 6) у особей рыбы, которые подверглись наиболее эффективной обработке, наблюдалось 8-кратное увеличение начальной живой массы. Темп роста варьировался от 3,00 до 3,57%/день. По сравнению с контрольной обработкой, все рационы с композицией по настоящему изобретению показали значительное увеличение (P<0,05) УТР. Значения ККП варьировались от 0,85 до 1,10, и по сравнению с контрольным рационом включение композиции по настоящему изобретению на всех дозах испытания привело к значительному снижению ККП (P<0,05). Коэффициент эффективности белка (КЭБ) варьировался от 2,01 до 2,56. Минимальное значение КЭБ наблюдалось у особей рыбы, которые получали контрольный рацион, в то время как увеличение КЭБ было тесно связано с повышением доз композиции по настоящему изобретению.

Таблица 8

Показатели роста в день 90

Рацион	Контрольный	Y5	Y7.5	Y15	Y25
НЖМ (г)	5,0 ± 0,1	4,9 ± 0,1	5,0 ± 0,1	5,1 ± 0,1	5,1 ± 0,1
ЮЖМ (г)	42,9 ± 1,3 ^a	45,2 ± 1,0 ^b	49,0 ± 0,6 ^c	51,0 ± 1,4 ^c	55,9 ± 1,0 ^d
УТР, %/день	2,39 ± 0,06 ^a	2,47 ± 0,02 ^b	2,54 ± 0,03 ^b	2,56 ± 0,05 ^b	2,67 ± 0,04 ^c
ККП	0,93 ± 0,02 ^b	0,83 ± 0,03 ^a	0,80 ± 0,02 ^a	0,79 ± 0,04 ^a	0,79 ± 0,02 ^a
КЭБ	2,38 ± 0,06 ^a	2,68 ± 0,10 ^b	2,76 ± 0,06 ^b	2,80 ± 0,15 ^b	2,74 ± 0,08 ^b

Значения являются средними ± стандартное отклонение (n=3).

Значения в строке с разными экспонентами существенно отличаются друг от друга (P<0,05).

В конце испытания через 90 дней экспериментального кормления (табл. 8) у особей рыбы, которые подверглись наиболее эффективной обработке, наблюдалось 11-кратное увеличение начальной живой массы. По сравнению с контрольными особями рыбы, у тех особей, которые получали богатые насекомыми рационы, наблюдалось значительное увеличение конечной живой массы ($P<0,05$). Данное увеличение зависело от дозы с умеренным увеличением в рационе Y5, средним в Y7,5 и Y15 и максимальным в Y25. Удельный темп роста (УТР) варьировался от 2,39 до 2,67%/день, причем минимальное значение наблюдалось у особей рыбы, которые получали контрольный рацион, в то время как у особей, которые получали корма с композицией по настоящему изобретению, наблюдались значительно более высокие значения УТР ($P<0,05$). Независимо от уровня применения, использование композиции по настоящему изобретению привело к значительному сокращению ККП ($P<0,05$). По сравнению с контрольной обработкой, все рационы, включающие муку из насекомых, обусловили значительное увеличение значений КЭБ ($P<0,05$).

2.2. Состав тела/

Данные о составе тела форели по завершении испытания представлены в табл. 9. Обработка корма не повлияла ($P>0,05$) на влажность, уровни белков, липидов, золы, фосфора и энергетическую ценность целой рыбы.

Таблица 9

Состав тела особей форели, которые получали разные обработанные корма

Состав тела	Контрольный	Y5	Y7,5	Y15	Y25
Влажность, %	70,1 ± 0,6	70,7 ± 0,4	71,1 ± 0,4	70,5 ± 0,5	70,7 ± 1,2
Белок, %	14,8 ± 0,6	14,8 ± 0,3	15,0 ± 0,5	15,2 ± 0,3	15,2 ± 0,7
Жир, %	12,2 ± 0,2	11,5 ± 0,4	11,0 ± 0,3	11,6 ± 0,1	11,8 ± 0,9
Зола, %	1,9 ± 0,0	2,2 ± 0,2	2,1 ± 0,3	2,1 ± 0,0	2,2 ± 0,1
Фосфор, %	0,4 ± 0,0	0,4 ± 0,0	0,4 ± 0,0	0,4 ± 0,0	0,4 ± 0,0
Энергетическая ценность, кДж/г	8,2 ± 0,1	8,0 ± 0,0	8,0 ± 0,0	8,0 ± 0,2	8,2 ± 0,4

Данное процентное содержание представлено как процентное содержание по массе по отношению к общей массе рыбы.

Значения являются средними ± стандартное отклонение ($n=3$).

Первоначальные показатели рыбы: влажность 75,0%; белки 14,1%; жиры 8,7%; зола 2,2%; фосфор 0,4%, энергетическая 6,7 кДж/г.

2.3. Удержание питательных элементов.

Значения удержания питательных элементов и энергетической ценности (выраженные в процентном отношении потребления) представлены в табл. 10. По сравнению с контрольной обработкой, у особей рыбы, которые получали рационы, богатые композицией по настоящему изобретению, наблюдалось значительное увеличение удержания белков и энергетической ценности ($P<0,05$). Аналогичным образом, в рационах Y7,5, Y15 и Y25 наблюдалось значительно более высокое удержание Р, чем в контрольном рационе ($P<0,05$). Рационы не повлияли на удержание жиров ($P>0,05$).

Таблица 10

Удержание питательных элементов и энергетической ценности у особей форели, которые получали разные рационы

Удержание, % потребления	Контрольный	Y5	Y7,5	Y15	Y25
Белок	35,5 ± 2,5 ^a	39,8 ± 0,7 ^b	41,6 ± 0,4 ^b	42,8 ± 2,2 ^b	41,9 ± 2,2 ^b
Жир	64,4 ± 2,1	68,0 ± 4,9	66,8 ± 3,3	71,5 ± 3,4	70,9 ± 6,7
Фосфор	30,5 ± 0,7 ^a	32,7 ± 1,8 ^{ab}	34,0 ± 0,7 ^b	33,9 ± 1,7 ^b	33,8 ± 1,1 ^b
Энергетическая ценность	42,0 ± 0,8 ^a	45,4 ± 1,6 ^b	47,1 ± 1,4 ^b	47,8 ± 1,8 ^b	48,0 ± 2,9 ^b

Значения являются средними ± стандартное отклонение ($n=3$).

Значения в строке с разными экспонентами существенно отличаются друг от друга ($P<0,05$).

2.4. Видимая перевариваемость

Состав экскрементов, собранных у особей форели, которые получали разные обработанные корма, представлен в табл. 11.

Таблица 11

Состав экскрементов особей форели, которые получали разные рационы

Состав экскрементов	Контрольный	Y5	Y7.5	Y15	Y25
Оксид иттрия, (мг/кг)	1384 ± 39	1395 ± 94	1415 ± 61	1369 ± 62	1411 ± 43
Белок, % СВ*	19,63 ± 0,06	19,67 ± 0,24	19,76 ± 0,34	19,70 ± 0,38	19,20 ± 0,41
Жиры, % СВ*	4,37 ± 0,06	4,33 ± 0,19	4,28 ± 0,24	4,30 ± 0,06	4,20 ± 0,33
Фосфор, % СВ*	2,64 ± 0,06	2,77 ± 0,08	2,65 ± 0,10	2,54 ± 0,15	2,62 ± 0,09
Энергетическая ценность, кДж/г СВ	23,24 ± 0,16	23,14 ± 0,40	23,47 ± 0,47	22,88 ± 0,16	23,09 ± 0,16

*Процентное содержание по массе по отношению к общей массе сухих экскрементов.

Значения являются средними ± стандартное отклонение (n=3).

Коэффициенты видимой переваримости (КВП %) для разных питательных элементов и энергетической ценности представлены в табл. 12. Увеличение доз состава по настоящему изобретению не повлияло существенно ($P>0,05$) на видимую перевариваемость сухого вещества, белков, жира, фосфора и энергетическую ценность.

Таблица 12

Видимая перевариваемость питательных элементов и энергетическая ценность форели

КВП %	Контрольный	Y5	Y7.5	Y15	Y25
Сухое вещество	84,2 ± 0,4	84,2 ± 1,0	84,3 ± 0,7	84,0 ± 0,7	84,3 ± 0,5
Белок	93,6 ± 0,2	93,6 ± 0,4	93,6 ± 0,2	93,5 ± 0,4	93,8 ± 0,1
Жир	97,0 ± 0,1	97,0 ± 0,1	97,0 ± 0,2	97,0 ± 0,2	97,1 ± 0,3
Фосфор, % потребления	69,9 ± 1,4	68,3 ± 1,5	70,5 ± 2,4	71,4 ± 2,9	70,3 ± 1,8
Энергетическая ценность, % потребления	84,1 ± 0,4	84,3 ± 0,8	84,1 ± 1,0	84,2 ± 0,6	84,4 ± 0,6

Значения являются средними ± стандартное отклонение (n = 3).

3. Заключение.

Через 90 дней экспериментального кормления общие показатели роста можно считать достаточно удовлетворительными, причем более высокие показатели наблюдаются у мальков радужной форели, а значения УТР по общей длительности испытания варьируются от 2,4 до 2,7%/день. При наиболее эффективной обработке у рыбы наблюдалось 11-кратное увеличение начальной живой массы. Кормовой коэффициент перевода при обработке варьировался от 0,79 до 0,93, что предполагает надлежащую питательную адекватность кормов и практику кормления.

Экспериментальные данные, полученные в этом примере, подтверждают следующее.

Применение нарастающих доз композиции по настоящему изобретению (5, 7,5, 15 и 25%) с сопутствующим снижением использования рыбной муки было неуклонно связано со значительным увеличением живой массы рыбы.

Во всех рационах, включавших композицию по настоящему изобретению, наблюдалось существенное улучшение УТР, ККП и КЭБ.

Применение нарастающих доз композиции по настоящему изобретению не повлияло на состав тела особей форели.

Применение нарастающих доз композиции по настоящему изобретению не повлияло на видимую перевариваемость сухого вещества, белков, липидов, фосфора и энергетическую ценность в разных экспериментальных рационах.

Удержание белков, фосфора и энергетической ценности было выше у особей форели, которые получали корма, включающие композицию по настоящему изобретению.

В целом, композиция по настоящему изобретению, представленная в данном примере, может эффективно заменять 100% рыбной муки в рационе мальков форели с положительным влиянием на ККП и общие показатели роста.

Пример 5. Способы с/без измельчения перед прессованием.

Способ только с прессованием.

200 г личинок *T. molitor* насыпаются в лабораторный стакан, помещаются в водяную баню при температуре 100°C, в которой содержится 200 мл ранее вскипяченной воды. Через 5 мин стакан извлекается из водяной бани, личинки высушиваются, после чего подаются в двухшнековый пресс. Таким образом, получают жмых.

Способ с измельчением и последующим прессованием.

200 г личинок *T. molitor* насыпаются в лабораторный стакан, помещаются в водяную баню при температуре 100°C, в которой содержится 200 мл ранее вскипяченной воды. Через 5 мин стакан извлекается

из водяной бани, личинки высушиваются, после чего смешиваются с 200 мл воды. Полученная жидкость проходит в двухшнековый пресс. Таким образом, получают жмых.

Измерение содержания липидов.

2 г пробы помещают в лабораторный стакан, в который добавляют 0,2 г Na_2SO_4 и 15 мл $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ (2/1 в объемном отношении). Смесь подвергают магнитному перемешиванию в течение 20 мин, затем раствор фильтруют, а остаток снова помещают в лабораторный стакан с 10 мл $\text{CHCl}_3/\text{MeOH}$ (2/1 в объемном отношении). Смесь подвергают магнитному перемешиванию в течение 15 мин, затем раствор фильтруют, а растворимые фазы объединяют и выпаривают до достижения постоянной массы. Содержание липидов определяется как процентное содержание по массе после экстрагирования/выпаривания по отношению к начальной массе пробы (2 г).

Заключение.

Была исследована значимость измельчения до прессования (фиг. 3). Таким образом, очевидно, что распределение липидов в жмыхе и экстракте, полученном прессованием, намного более эффективное: 12,9 и 87,1 по сравнению с 42,7 и 57,3 при предварительном измельчении.

Пример 6. Анализ размера растворимых белков в композиции по настоящему изобретению.

Пробу 100 мг композиции, приготовленной в примере 1, поместили в 10 мл фосфатного буфера NaCl (pH 7,4, 0,137 ммоль). Пробу помешивали в течение 1 мин (вихревым способом), а затем центрифугировали 900 г в течение 1 мин. После центрифугирования пробу фильтровали через мембрану 0,45 мкм. Анализ размера растворимых белков проводился с помощью системы пространственно-экслюзионной хроматографии с колонкой Nucleogel GFC-300. Фосфатный буфер NaCl (pH 7,4, 0,137 ммоль) использовался в качестве элюента. Расход составлял 1,0 мл/мин. Детектирование проводилось с помощью ультрафиолетового детектора на 280 нм.

Результаты анализа представлены на фиг. 4 и обобщены в табл. 13.

Таблица 13

Распределение по размерам растворимых белков, содержащихся в композиции, приготовленной в примере 1

Размер белков (кг/моль)	Относительная распространенность (%)
От 6,5 до 12,4	74,4
От 12,4 до 29	20,5
От 29 до 66	5,1

Результаты свидетельствуют о том, что приблизительно 74,4% растворимых белков, присутствующих в композиции по настоящему изобретению, имеют молярную массу менее 12,400 г/моль (или Да, дальтон).

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Композиция, полученная из насекомых, используемая для кормления животных, включающая как минимум 67 мас.% сырых белков, как минимум 5 мас.% хитина, причем процентные содержания по массе указаны по отношению к общей массе композиции, и 85 мас.% перевариваемых белков по отношению к общей массе сырых белков.

2. Композиция по п.1, включающая золу с содержанием не более 4 мас.% по отношению к общей массе композиции.

3. Композиция по п.1 или 2, включающая жир с содержанием от 5 до 20 мас.% по отношению к общей массе композиции.

4. Композиция по любому из пп.1-3, остаточная влажность которой составляет от 2 до 15%.

5. Композиция по любому из пп.1-4, включающая от 30 до 60 мас.% растворимых белков по отношению к общей массе сырых белков, причем как минимум 50% растворимых белков имеют молярную массу не более 12,400 г/моль.

6. Способ приготовления композиции по любому из пп.1-5, включающий следующие этапы:

- i) умерщвление насекомых;
- ii) прессование насекомых для получения жмыха;
- iii) сушка жмыха и
- iv) измельчение жмыха.

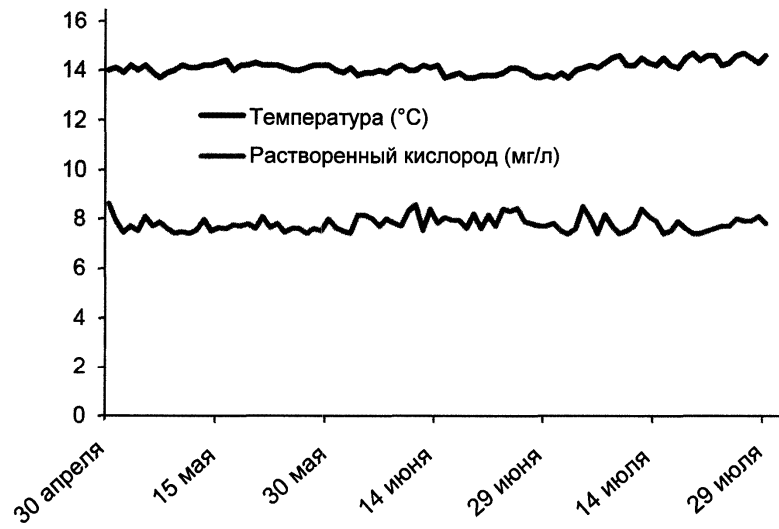
7. Способ по п.6, в котором этапе прессования предшествует этап измельчения насекомых.

8. Способ по п.6, в котором этап прессования выполняется в горячем режиме.

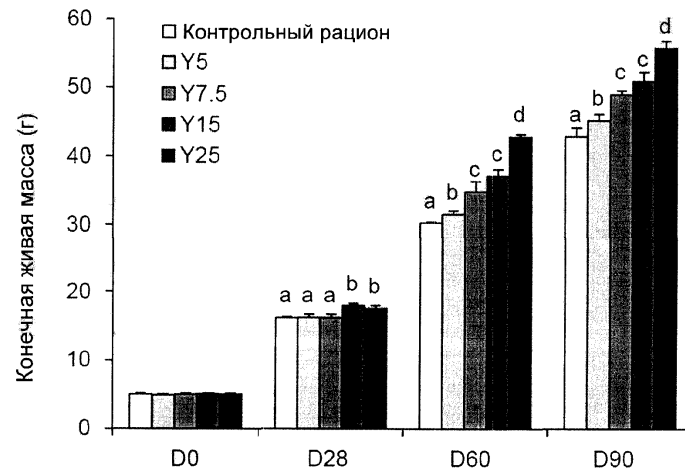
9. Способ по п.6, в котором этап измельчения жмыха выполняется до достижения размера частиц от 300 мкм до 1 мм.

10. Применение композиции по любому из пп.1-5 в продуктах питания животных.

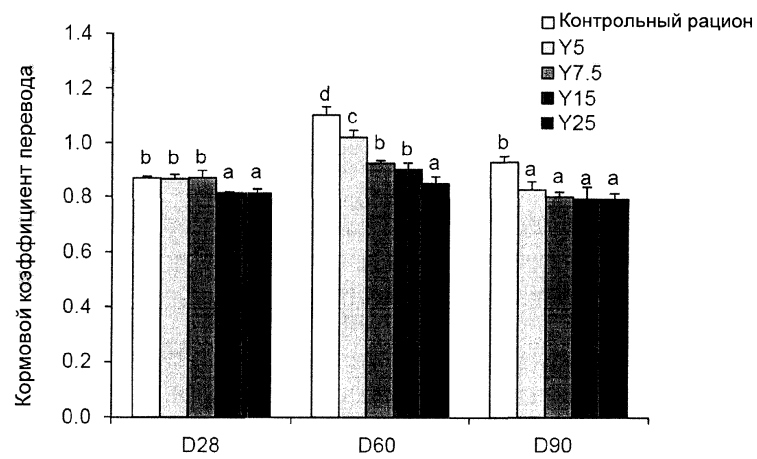
11. Применение по п.10, отличающееся тем, что композиция используется в качестве замены белковой муки.



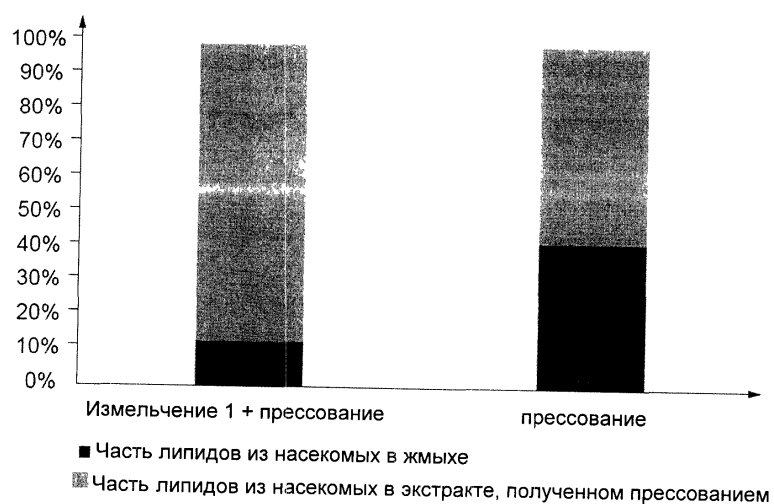
Фиг. 1



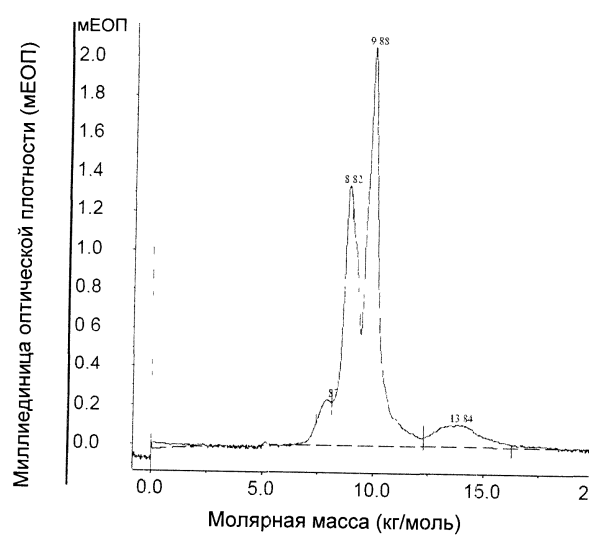
Фиг. 2А



Фиг. 2В



Фиг. 3



Фиг. 4



Евразийская патентная организация, ЕАПВ

Россия, 109012, Москва, Малый Черкасский пер., 2