

УДК 636.087.8

Активность глюканаз и ксиланаз кормовых ферментных препаратов в ЖКТ птицы

Волчок А.А., кандидат химических наук, младший научный сотрудник

Короткова О.Г., кандидат химических наук, старший научный сотрудник

Кондратьева Е.Г., кандидат физико-математических наук, старший научный сотрудник, ФИЦ Биотехнологии РАН

Крюков В.С., профессор, доктор биологических наук, консультант, ООО «ВетФармСтандарт»

Синицына О.А., кандидат химических наук, старший научный сотрудник

Синицын А.П., доктор химических наук, профессор, заведующий лабораторией Химического факультета, МГУ им. М.В. Ломоносова»

Шашков И.А., младший научный сотрудник, ФИЦ Биотехнологии РАН

Аннотация. В статье описано проявление активности эндо- β 1,4-глюканаз (глюканаз) и эндо- β 1,4-ксиланаз (ксиланаз) в составе ряда отечественных и зарубежных коммерческих кормовых ферментных препаратов в условиях *in vitro*, моделирующих среду ЖКТ птицы. Определено изменение их каталитической активности в средах, которые по значению pH, температуры и наличию пищеварительных протеаз характерны для желудка и кишечника птицы.

Ключевые слова: некрахмальные полисахариды, каталитическая активность, корма, ферментные препараты, ксиланаза, эндоглюканаза (глюканаза).

The Activities of Glucanases and Xylanases from Enzymatic Feed Additives in the Gastrointestinal Tract in Poultry

Volchok A.A., Cand. of Chem. Sci., Junior Scientist

Korotkova O.G., Cand. of Chem. Sci., Senior Scientist

Kondratyeva E.G., Cand. of Phys.-Math. Sci., Senior Scientist, Federal Research Center for Biotechnology of RAS

Kryukov V.S., Dr. of Biol. Sci., Prof., Consultant, «VetPharmStandard» Co.

Sinitsyna O.A., Cand. of Chem. Sci., Senior Scientist

Sinitsyn A.P., Dr. of Chem. Sci., Prof., Head of Lab., Chemical Faculty, Moscow State University

Shashkov I.A., Junior Scientist, Federal Research Center for Biotechnology of RAS

Summary. The activities of *endo*- β 1,4-glucanases (glucanases) and *endo*- β 1,4-xylanases (xylanases) from different Russian and foreign commercial enzymatic feed additives were determined *in vitro* in a model simulating the properties of the digesta in different GIT segments in poultry. The catalytic activities of the enzymes were measured in conditions modeling the gizzard and the small intestine (pH, temperature, the presence of digestive proteases).

Key words: non-starch polysaccharides, catalytic activity, feeds, enzymatic additives, xylanase, endoglucanase (glucanase).

Зерновые корма характеризуются наличием некрахмальных полисахаридов (НПС), таких, как целлюлоза, β -глюканы и ксиланы — их содержание варьируется от 7–10% в пшенице, до 17% — в ячмене. НПС не перевариваются в желудочно-кишечном

тракте в связи с тем, что в организме не вырабатываются соответствующие ферменты. Но при этом они ещё ухудшают переваривание основных питательных веществ, поскольку повышают вязкость химуса, замедляют транзит корма в пищеварительном





Таблица 1. Единицы измерения активности на примере ксиланазы

| Номер ФП | Единицы измерения | Численное значение | Субстрат для определения активности | Условия инкубации |
|----------|-------------------|-----------------------|-------------------------------------|-------------------|
| 1 | EXU | 1 мкмоль ксилозы | Арабиноксилан | pH 3,5; 40° С |
| 2 | FXU | 7,8 мкмоль ксилозы | Азо-арабиноксилан пшеничный | pH 6,0; 50° С |
| 3 | FXU | 0,15 мкмоль ксилозы | Азурин-ксилан | pH 5,0; 40° С |
| 4 | TXU | 5 мкмоль ксилозы | Арабиноксилан | pH 3,5; 40° С |
| 5 | U | 1 мкмоль ксилозы | Ксилан берёзы | pH 5,3; 50° С |
| 6 | EPU | 0,0083 мкмоль ксилозы | Ксилан овса | pH 4,7; 30° С |
| 7 | IEF | 1 мкмоль ксилозы | Ксилан овса | pH 4,8; 50° С |
| 8 | VXU | 0,06 мкмоль ксилозы | Ксилан берёзы | pH 5,3; 50° С |
| 9 | U | 1 мкмоль ксилозы | Ксилан овса | pH 5,3; 50° С |

тракте и снижают всасывание переваренных продуктов. Кроме того, непереваренные остатки корма, перемещаясь в нижний отдел кишечника, обеспечивают размножение патогенной и условно-патогенной микрофлоры, ухудшая здоровье птицы и, соответственно, продуктивность.

Ведущим способом уменьшения негативного влияния НПС кормов является использование ферментных препаратов (ФП). Включённые в корм ферменты, дополняя ферментную систему птицы, обеспечивают переваривание НПС, в результате способствуют улучшению использования питательных веществ рациона, а также улучшают здоровье птицы. Экономические преимущества применения ФП в качестве кормовых добавок заключаются в увеличении доступности питательных веществ корма и в результате — в снижении его расхода на производство продукции. Другая позитивная сторона их использования — возможность потребления более дешёвых видов растительного сырья в качестве корма.

Ферментные препараты, предназначенные для переваривания НПС, включают в преобладающее число рационов для свиней и птицы. Средний их расход составляет, как правило, 50–150 г/т комбикорма. Основными критериями, которые определяют эффективность действия ФП, является наличие в них определённых ферментов, способных переваривать различные виды НПС, а также их стабильность к воздействию разных инактивирующих факторов. Мало изученным остаётся проявление активности ферментов в ЖКТ после потребления с кормом.

При выборе ФП специалисты должны учитывать активность ферментов, которая выражаются в единицах активности. Однако на этом этапе появляются трудности, обусловленные тем, что существует

около десятка единиц для измерения активности ферментов. Они обладают разной размерностью или определяются в различных условиях, что также делает их несравнимыми и, соответственно, исключается возможность оценки при их выборе (табл. 1).

Так, если сравнить ФП 2 и 3, имеющие одинаковое обозначение FXU, то единица под №2 отражает высвобождение ксилозы в 52 раза больше, чем единица под №3, что связано с применением разных субстратов и неодинаковых условий инкубации. В инструкциях, характеризующих ФП, указывают конкретные числовые значения единиц FXU или других, но при этом не приводят величин размерности и условий их определения.

Исходя из этого, невозможно оценить препарат по активности ксиланазы, которую она будет проявлять в условиях ЖКТ. Обратим внимание на единицы U, которыми измеряют активность ксиланазы под №5 и 9: численные значения одинаковы, условия измерения тоже не различаются, но в качестве субстрата в одном случае используют ксилан берёзы, а в другом — ксилан овса.

Насколько их активность будет совпадать в условиях ЖКТ, где температура, pH и ксиланы корма будут другими? При сравнении единиц U под №5 и VXU под №8 можно заметить, что субстрат, используемый для определения активности ксиланазы, и условия инкубации совпадают, но единица U отражает высвобождение 1 мкмоль ксилозы, а VXU — в 16,6 раза меньше.

Аналогичные различия существуют и между значимостью единиц, характеризующих активность целлюлаз и β-глюканаз. Производители ФП для контроля производственного технологического процесса применяют разные методы анализа, кото-

рые у каждого из них сложились в силу определённых внутренних причин, поэтому приводимые ими величины, характеризующие активность, не позволяют потребителям отдать предпочтение тому или другому препарату.

Из этого следует, что при выборе ФП разных производителей ориентироваться на приводимые ими единицы активности нет особенного смысла.

Проблему можно решить, используя единую методику оценки ксиланаз или целлюлаз и других ферментов для препаратов всех поставщиков, например, на основании действующих в Российской Федерации ГОСТов.

Каждый производитель при декларировании активности ФП заинтересован в наиболее высокой активности ферментов, поэтому подбирает условия её определения, в которых она будет максимальной: в большинстве случаев анализ целлюлазной, β -глюканазной и ксиланазной активности проводят при 50° С и рН 5, что не отражает условия ЖКТ.

При выборе наиболее подходящего ФП важно учесть время сохранения активности ферментов в среде ЖКТ птицы после потребления препарата с кормом, а именно: в различных его отделах, в том числе при воздействии собственных протеолитических ферментов (пепсина, трипсина).

Подобных исследований в России не проводили, хотя за рубежом этой проблеме в научных исследованиях уделяют большое внимание. На эти результаты пока не обращают внимания производители ферментов, и не будут обращать до тех пор, пока соответствующие требования к ним не предъявят потребители.

В ходе настоящего исследования авторы моделировали условия среды ЖКТ птицы (рН 3,0 + пепсин или рН 7,0 + трипсин, t 38° С), в этих условиях определяли активность и стабильность эндо- β 1,4-глюканаз (глюканаз) и эндо- β 1,4-ксиланаз (ксиланаз) различных коммерческих кормовых ФП, получивших распространение в России и предназначенных для переваривания НПС.

Изучение влияния желудочного сока (ЖС) на стабильность ферментов проводили в среде инкубации, содержащей 41,7 ед./мл пепсина. Смесь предварительно разбавленного до определённого уров-

ня раствора исследуемого ФП с ЖС инкубировали при 38° С, отбирали из реакционной смеси пробы (30 и 120 мин) и определяли в них активность эндоглюканазы и ксиланазы по отношению к растворимым в водной среде окрашенным оранжевым производным карбоксиметилцеллюлозы (АОЖТ-КМЦ) и берёзового ксилана (АОЖТ-ксилан). Кроме того, определяли активность ферментов препаратов по отношению к этим субстратам при рН 5,0 и 50° С.

Из ферментов кишечного содержимого (КС), наиболее активно действующими на белки корма, в том числе белки кормовых ферментов, являются протеазы — в первую очередь трипсин, поэтому он был выбран для создания модели КС и проверки его влияния на стабильность ферментов. Изучение влияния КС на стабильность ферментов ФП проводили в среде инкубации, содержащей 3,125 ед./мл трипсина.

Смесь предварительно разбавленного до определённого уровня раствора исследуемого препарата с кишечным содержанием инкубировали при 38° С, отбирали из реакционной смеси пробы (30 и 120 мин) и определяли в них активность эндоглюканазы и ксиланазы, используя в качестве субстратов растворимые в водной среде КМЦ или берёзовый ксилан. Оценивали также активность ферментов ФП по отношению к этим субстратам при рН 5,0 и 50° С.

В таблице 2 представлены расчётные данные, показывающие изменение глюканазной и ксиланазной активности в ФП в условиях ЖС (т.е. при рН 3,0 и 38° С) относительно величин активности, устанавливаемых большинством производителей препаратов при рН 5,0 и 50° С (взяты за 100%). Представление результатов в таком виде более наглядно отражает изменение активности ферментов в изучаемых условиях.

Исходная активность эндоглюканазы в ФП при рН 5,0 и 50° С варьировалась в пределах 65–5870 ед./г, то есть различалась в 90 раз; активность ксиланазы находилась в пределах 100–11000 ед./г и различалась в 110 раз. В то же время рекомендуемые эффективные дозы включения препарата в комбикорма отличаются не более чем в 10 раз. Из этого следует, что активность ФП не связана прямо пропорционально с их рекомендуемыми дозами. Это свидетельствует о значительных различиях свойств ферментов, входящих в состав ФП и/или





Таблица 2. Относительное изменение активности глюканазы (Эгл) и ксиланазы (Ксил) in vitro в ФП в зависимости от времени инкубации в условиях ЖС (рН 3,0, 38° С, в присутствии пепсина)

| № | Ферментный препарат | Производители | Активность при 50° С, рН 5 | | Активность при 38° С, рН 3,0 в присутствии пепсина, % от активности, определённой при 50° С, рН 5 | | | | | |
|--------------------------------|---------------------|--|----------------------------|-------|---|------|------------------|------|-------------------|------|
| | | | | | 0 мин инкубации | | 30 мин инкубации | | 120 мин инкубации | |
| | | | Эгл | Ксил | Эгл | Ксил | Эгл | Ксил | Эгл | Ксил |
| 1 | Фекорд-2004-С | ТД «Фермент», Беларусь | 80 | 290 | 90 | 81 | 71 | 58 | 36 | 53 |
| 2 | Агроцелл Плюс | Агрофермент, Россия | 4100 | 1050 | 56 | 80 | 53 | 77 | 45 | 73 |
| 3 | Акстра ХВ 201 | Du Pont, США | 1300 | 780 | 62 | 62 | 60 | 56 | 56 | 54 |
| 4 | Эконаза ХТ 25 | AB Enzymes, Германия | 65 | 2100 | 63 | 54 | 61 | 51 | 56 | 44 |
| 5 | Агроксил Плюс | Агрофермент, Россия | 1100 | 4100 | 60 | 54 | 59 | 53 | 59 | 53 |
| 6 | Агроксил Премиум | Агрофермент, Россия | 3200 | 2700 | 56 | 54 | 53 | 52 | 53 | 52 |
| 7 | Вилзим | Ептех, Мексика | 2180 | 11000 | 58 | 52 | 54 | 49 | 34 | 37 |
| 8 | Агроцелл | Агрофермент, Россия | 4200 | 1100 | 40 | 70 | 39 | 67 | 32 | 64 |
| 9 | Ровабио Макс AP | Adisseo, Франция | 1480 | 2720 | 23 | 70 | 21 | 69 | 13 | 55 |
| 10 | Ксибетен-Целл | Биовет-Фермент, Болгария | 4000 | 610 | 25 | 67 | 24 | 64 | 23 | 55 |
| 11 | Акстра ХАР 101 | Du Pont, США | 0 | 1800 | —* | 67 | —* | 61 | —* | 54 |
| 12 | Эндофид | Andres Pinaluba, S.A., Испания | 580 | 1000 | 31 | 65 | 27 | 54 | 23 | 29 |
| 13 | Целлюлаза | ALBE, Liaoning Baijia Biotechnology Co., Китай | 5870 | 500 | 39 | 62 | 35 | 60 | 30 | 31 |
| 14 | Целлолюкс F | Сиббиофарм, Россия | 3500 | 1440 | 23 | 61 | 22 | 60 | 20 | 56 |
| 15 | Агроксил | Агрофермент, Россия | 1020 | 5100 | 44 | 60 | 42 | 56 | 33 | 40 |
| 16 | Роксазим G2G | DSM, (ДСМ) | 350 | 720 | 46 | 58 | 45 | 56 | 44 | 53 |
| 17 | Ровабио Эксель AP | Adisseo, Франция | 1490 | 2850 | 20 | 57 | 19 | 56 | 14 | 33 |
| 18 | Ксибетен-Ксил | Биовет-Фермент, Болгария | 1600 | 4000 | 33 | 56 | 26 | 45 | 25 | 43 |
| 19 | Фекорд-2012-Ф | ТД «Фермент», Беларусь | 400 | 200 | 52 | 47 | 51 | 42 | 49 | 35 |
| 20 | Санзайм | Wuhan SUNHY Biology Co., Китай | 1450 | 4100 | 34 | 46 | 32 | 42 | 30 | 27 |
| 21 | Хостазим С-100 | Биовет, Болгария | 500 | 100 | 40 | 44 | 37 | 0 | 28 | 0 |
| 22 | Ронозим VP | Novozymes A/S, Дания | 130 | 150 | 35 | 42 | 34 | 42 | 29 | 32 |
| 23 | Натугрейн TS | BASF, Германия | 225 | 1980 | 43 | 40 | 30 | 39 | 25 | 37 |
| 24 | Ронозим WX | Novozymes A/S, Дания | 15 | 970 | —* | 38 | —* | 37 | —* | 31 |
| В среднем по всем ферментам, % | | | — | — | 44,2 | 57,8 | 40,6 | 50,7 | 34,4 | 43,7 |

Примечание: * эндоглюканазная активность не заявлена.

различий в технологии их производства, которая влияет на активность.

Детальное описание ФП, представленных в таблице 2, с указанными их активностями можно найти в электронной базе данных Россельхознадзора (кроме экспериментальных препаратов Агроцелл Плюс, Агроксил Плюс и Агроксил Премиум). При этом следует учитывать, что активность в соответствующих «инструкциях по применению» будет, как отмечалось выше, приведена в единицах, имеющих разную размерность и определённую в условиях, принятых конкретным производителем, что исключает возможность их сравнения.

Общий обзор значений, приведённых в столбцах «0 мин инкубации» таблицы 2, позволяет рассчитать, что у большинства ФП снижение активности глюканазы, измеренной при рН 3,0 и 38° С по сравнению с рН 5,0 и 50° С, было более выраженным по сравнению с ксиланазной и составило в среднем примерно 56%, а ксиланазы — около 42 процентов. Этот факт, а также данные, приведённые

в других колонках таблицы, дают основание считать, что молекула белка глюканазы более чувствительна к изменению рН и температуры до уровня, характерного для среды ЖС. Вместе с тем из общей закономерности наблюдались исключения: у ферментных препаратов Фекорд 2004-С, Эконаза ХТ 25, Агроксил Плюс и Вилзим сохранение активности глюканазы было более выражено, чем ксиланазы. Активное (ниже среднего) падение глюканазной активности при рН 3,0 и 38° С наблюдали у Ровабио Эксель AP, Ровабио Макс AP, Целлолюкс F, Эндофид, Ксибетен-Ксил и Ронозим VP.

Разброс показателей снижения активности ксиланазы при рН 3,0 и 38° С по сравнению с рН 5,0 и 50° С (см. «0 мин инкубации» табл. 2) был значительно меньшим по сравнению с глюканазой. Низкими значениями ксиланазной активности отличались Ронозим WX и Ронозим VP, Натугрейн TS и Хостазим С-100. Напротив, лучше других проявляла себя ксиланазы у Фекорд-2004-С, Агроцелл Плюс, Агроцелл, Ровабио МАХ AP, Ксибетен-Целл и Акстра ХАР 101.

Таблица 3. Изменение активности эндоглюканазы (Эгл) и ксиланазы (Ксил) *in vitro* в ФП в зависимости от времени инкубации в условиях ЖС (рН 7,0; 38° С, в присутствии трипсина)

| № | Ферментный препарат | Производители | Активность при 50° С, рН 5 | | Активность при 38° С, рН 7,0 + трипсин (кишечник), в % от активности, определённой при 50° С, рН 5 | | | | | |
|--------------------------------|---------------------|---|----------------------------|-------|--|------|------------------|------|-------------------|------|
| | | | Эгл | Ксил | 0 мин инкубации | | 30 мин инкубации | | 120 мин инкубации | |
| | | | | | Эгл | Ксил | Эгл | Ксил | Эгл | Ксил |
| 1 | Фекорд-2004-С | ТД «Фермент», Беларусь | 80 | 290 | 33 | 47 | 31 | 47 | 20 | 42 |
| 2 | Агроцелл Плюс | Агрофермент, Россия | 4100 | 1050 | 32 | 42 | 28 | 38 | 27 | 37 |
| 3 | Акстра ХВ 201 | Du Pont, США | 1300 | 780 | 11 | 45 | 3 | 44 | 0 | 40 |
| 4 | Эконаза ХТ 25 | AB Enzymes, Германия | 65 | 2100 | 13 | 47 | 4 | 45 | 0 | 44 |
| 5 | Агроксил Плюс | Агрофермент, Россия | 1100 | 4100 | 35 | 32 | 25 | 29 | 22 | 26 |
| 6 | Агроксил Премиум | Агрофермент, Россия | 3200 | 2700 | 36 | 42 | 31 | 37 | 28 | 37 |
| 7 | Вилзим | Enpex, Мексика | 2180 | 11000 | 12 | 28 | 10 | 27 | 6 | 26 |
| 8 | Агроцелл | Агрофермент, Россия | 4200 | 1100 | 25 | 45 | 16 | 44 | 15 | 43 |
| 9 | Ровабио Макс AP | Adisseo, Франция | 1480 | 2720 | 4 | 8 | 1 | 3 | 0 | 2 |
| 10 | Ксибетен-Целл | Биовет-Фермент, Болгария | 4000 | 610 | 5 | 0 | 4 | 0 | 3 | 0 |
| 11 | Акстра ХАР 101 | Du Pont, США | —* | 1800 | —* | 52 | —* | 51 | —* | 51 |
| 12 | Эндифид | Andres Pinaluba, S.A., Испания | 580 | 1000 | 6 | 26 | 6 | 25 | 5 | 23 |
| 13 | Целлюлаза | ALBE, Liaoning Baijia Biotechno-logy Co., Китай | 5870 | 500 | 5 | 31 | 1 | 28 | 0 | 22 |
| 14 | Целлолюкс F | Сиббиофарм, Россия | 3500 | 1440 | 7 | 31 | 0 | 24 | 0 | 23 |
| 15 | Агроксил | Агрофермент, Россия | 1020 | 5100 | 25 | 38 | 23 | 37 | 21 | 36 |
| 16 | Роксазим G2G | DSM, (ДСМ) | 350 | 720 | 17 | 32 | 12 | 30 | 5 | 28 |
| 17 | Ровабио Эксель AP | Adisseo, Франция | 1490 | 2850 | 4 | 6 | 1 | 2 | 0 | 1 |
| 18 | Ксибетен-Ксил | Биовет-Фермент, Болгария | 1600 | 4000 | 10 | 32 | 9 | 31 | 9 | 31 |
| 19 | Фекорд-2012-Ф | ТД «Фермент», Беларусь | 400 | 200 | 32 | 27 | 30 | 27 | 26 | 25 |
| 20 | Санзайм | Wuhan SUNHY Biology Co., Китай | 1450 | 4100 | 8 | 28 | 2 | 27 | 1 | 26 |
| 21 | Хостазим С-100 | Биовет, Болгария | 500 | 100 | 17 | 52 | 3 | 13 | 1 | 7 |
| 22 | Ронозим VP | Novozymes A/S, Дания | 130 | 150 | 29 | 37 | 26 | 36 | 13 | 36 |
| 23 | Натугрейн TS | BASF, Германия | 225 | 1980 | 55 | 9 | 55 | 9 | 55 | 9 |
| 24 | Ронозим WX | Novozymes A/S, Дания | 15 | 970 | —* | 30 | —* | 29 | —* | 29 |
| В среднем по всем ферментам, % | | | — | — | 19,1 | 30,6 | 14,6 | 28,4 | 11,7 | 26,8 |

Примечание: * ФП не содержали эндоглюканаз.

Исследования по изучению действия пепсина — протеазы желудка показали, что у всех ферментов при инкубации в течение 30 минут в условиях ЖС снижалась активность (выбранное время отражает длительность нахождения корма в желудке птицы). В среднем по всем ФП активность глюканаз после 30 минут инкубации снизилась с 44 до примерно 41% и ксиланаз — с 58 до 51 процента.

Глюканаза в большинстве препаратов была относительно устойчива к действию пепсина в течение 30 минут, отметим более заметное, чем у других ФП, уменьшение этой активности у Натугрейн TS и Фекорд-2004-С.

Ксиланаза, так же как и глюканаза, в большинстве препаратов была относительно устойчива к действию пепсина в течение 30 минут, хотя для ФП Хостазим С-100 активность ксиланазы была утрачена полностью, также значительно она снизилась у Ксибетен-Ксил и Эндифид.

В целом же можно отметить, что ферменты были относительно устойчивы к действию пепсина в течение

30 минут, что отражает условия их пребывания в желудке птицы. ФП, содержащие ксиланазу, являются наиболее востребованными в рационах для птицы, поэтому те из них, которые проявляют низкую активность в условиях ЖС или неустойчивы по отношению к пепсину, применять нецелесообразно.

Инкубация ФП в условиях ЖС в течение 120 минут привела к потере в отдельных препаратах больше половины активности глюканазы и ксиланазы, что обусловлено их разрушением под влиянием пепсина. В среднем же активность глюканаз после 120 минут инкубации снизилась с 44 до примерно 34% и ксиланаз — с 58 до 44 процентов.

Глюканаза в большинстве ФП была относительно устойчива к действию пепсина в течение 120 минут; наибольшее падение активности наблюдали у Фекорда-2004-С, Натугрейна TS и Вилзима.

Инкубация в течение 120 минут показала, что лучшей устойчивостью к пепсину обладала ксиланаза в препаратах Агроцелл Плюс, Агроцелл, Агроксил Плюс и Агроксил Премиум. Выше средней установ-





лена устойчивость ксиланазы к пепсину в препаратах Целлолюкс F, Ксибитен-Целл, Ровабио-Макс AP, Акстра ХАР 101, Акстра ХВ 201, Фекорд-2004-С, Роксазим G2G. Заметно снизилась активность ксиланазы в ФП Эндофид, Санзайм, Целлюлаза, Ровабио Эксель AP и Вилзим.

Как отмечено выше, активность ксиланазы в Хостазиме С-100 не обнаруживалась уже после 30 минут инкубации с пепсином, что показывает её низкую устойчивость в среде желудка. Очевидно, что препараты, ксиланазы которых не устойчивы к действию протеазы в условиях желудка в течение 120 минут, нецелесообразно применять при кормлении свиней.

Интересно обратить внимание на Агроксил Плюс, Агроксил Премиум, Ровабио Макс AP, Целлолюкс F и Роксазим G2G, активность ферментов в которых слабо зависела от присутствия в среде пепсина. Можно ожидать, что эти ФП при потреблении с кормом пройдут желудок, не снижая активности, и будут способны переваривать НПС в кишечнике.

В продолжении изучения влияния протеаз ЖКТ на стабильность кормовых глюканаз и ксиланаз в таблице 3 представлены данные, показывающие изменение глюканазной и ксиланазной активностей препаратов в условиях, моделирующих КС (при pH 7,0 и 38° С) относительно величин активностей, устанавливаемых большинством производителей ФП при pH 5,0 и температуре 50° С (приняты нами за 100%). Результаты расчёта доли активности ферментов, проявленной до инкубации с трипсином, но при условиях кислотности и температуры кишечника, приведённые в столбцах «0 мин инкубации» таблицы 3 показывают, что снижение температуры и повышение pH до 7 создавало более выраженные неблагоприятные условия для проявления активности глюканазы, чем при pH 3,0 (табл. 2).

Средняя доля активности глюканазы по всем ФП составила всего около 19% (pH 7, табл. 3), то есть в нейтральной среде кишечника она снизилась в 2 раза по сравнению с долей активности в кислой среде желудка. Примерно так же снизилась доля активности ксиланазы (в среднем активность снижалась примерно до 31%). Из этого следует, что нейтральная среда в кишечнике менее благоприятна для проявления активности глюканазы и ксилана-

зы по сравнению со средой в желудке, хотя корма большую часть времени находятся в кишечнике, где и должны действовать кормовые ферменты.

Менее всего при pH кишечника уменьшилась активность глюканазы в препарате Натугрейн TS — её остаточная активность составила 55% (табл. 3) и была даже выше, чем в условиях желудка (43%, табл. 2). Меньше чем в среднем по всем ФП снижалась активность эндоглюканазы в условиях КС у Агроксил Премиум, Агроксил Плюс, Фекорд-2004-С и Фекорд-2012-Ф. Напротив, у ФП Ровабио Макс AP, Ровабио Эксель AP, Ксибитен-Целл, Целлюлаза, Эндофид, Целлолюкс F, Санзайм, Акстра ХВ 201, Вилзим и Эконаза ХТ 25, у которых была выявлена только следовая глюканазная активность.

Активность ксиланазы снижалась меньше, чем в среднем по всем ФП, при pH 3,0 и 38° С по сравнению с pH 5,0 и 50° С у препаратов Фекорд-2004-Ф, Эконаза ХТ, Агроцелл, Акстра ХВ 201, Агроцелл Плюс, Агроксил и Целлолюкс F.

Существенно упала активность ксиланазы у Ровабио Эксель AP, Ровабио Макс AP и Натугейн TS, а Ксибитен-Целл полностью её утратил.

В присутствии трипсина при инкубации в течение 30 и 120 минут глюканазы более выражено теряли активность по сравнению с ксиланазой. Относительно высокую стабильность к действию трипсина при инкубации 30 и 120 минут проявляла глюканазы у Натугрейн TS, а также Агроксил Премиум, Агроцелл Плюс, Фекорд-2012-Ф, Агроксил Плюс, Агроксил, Агроцелл Плюс и Агроцелл — эти препараты сохраняли остаточную глюканазную активность выше среднего значения для всей исследуемой группы. Практически не проявляли глюканазной активности (менее 5%) после инкубации в течение 120 минут Акстра ХВ 201, Эконаза ХТ 25, Ровабио Макс AP, Ровабио Эксель AP, Целлюлаза, Целлолюкс F, Санзайм, Хостазим С-100.

К препаратам, сохраняющим ксиланазную активность в присутствии трипсина при инкубации в течение 30 и 120 минут выше её среднего значения, относятся Акстра ХАР 101, Эконаза ХТ 25, Агроцелл, Фекорд-2004-С, Акстра ХВ 201, Агроксил Премиум, Агроцелл Плюс, Агроксил, Ронозим VP и Ксибитен-Ксил. Хостазим С-100, проявивший высокую ксила-

назную активность до инкубации, заметно терял её в течение 30 и 120 минут инкубации в условиях ЖК в присутствии трипсина.

Ровабио Макс AP и Ровабио Эксель AP показали, как отмечалось выше, низкую активность до инкубации, при этом дополнительно теряли ксиланазную активность в течение 30 и 120 минут инкубации с трипсином. Натугрейн TS проявлял низкую ксиланазную активность в «0 минут до инкубации», но не терял её в течение 120 минут инкубации с трипсином, то есть динамика изменений активности у разных ФП не может быть охарактеризована общей закономерностью. Очевидно, что ФП с низкой активностью и стабильностью ферментов не улучшат заметно переваривание НПС в кишечнике, где пища находится преобладающую часть времени.

Изменение активности глюканаз и ксиланаз под влиянием температуры, pH среды и присутствия в ней протеаз, секретлируемых птицей, для возможности сравнения качества ФП и облегчения анализа приведены в долях (%) от исходной активности. Эти величины при необходимости можно пересчитать в единицы активности в численном выражении, чтобы оценить активность препарата, добавляемого в корм, и прогнозировать возможное действие ферментов в желудке и кишечнике.

В заключение отметим, что активность, приводимая в инструкциях по применению ФП, характеризует только конкретный продукт, поскольку выражена в единицах, не совпадающих по размерности с единицами, приведёнными для указания активности других ФП, что исключает возможность объективного их сравнения по этому показателю. Как правило, производители определяют активность ферментов в условиях, обеспечивающих достижение максимальных значений.

Эти условия не совпадают с температурой в ЖКТ, которая ниже и приводит к снижению проявления каталитической активности ферментов. Снижает активность изменение pH среды в желудке и кишечнике, а также присутствие протеаз ЖКТ. Действие перечисленных факторов проявляется в разной степени и зависит от химических свойств ферментов, технологии их приготовления, а также и физической формы ФП.

При приобретении ферментных препаратов для кормления птицы необходимо выбирать препараты, активно действующие в желудке и максимально стабильные в его среде в течение 30 минут, а также сохраняющие наиболее возможную активность в кишечнике в течение 2 часов. Подтверждение сделанного выбора необходимо в дальнейшем проверять в испытаниях на птице.

Авторы статьи с гордостью отмечают, что ферменты российского завода по производству ФП «Агрофермент» сохраняли активность и стабильность в ЖКТ лучше большинства изученных импортных препаратов. Это подтверждает, что разработчики России вносят реальный вклад в импортозамещение.

Учитывая, что представленные в статье материалы исследований получены на основании нового методического подхода и публикуются впервые, надеемся, что они могут стать поводом для развития исследований в этом направлении.

Работа выполнена при поддержке Минобрнауки России, ФЦП «Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития научно-технологического комплекса России на 2014-2020 годы» (идентификационный номер ПНИЭР RFMEFI60716X0159), а также с использованием научного оборудования ЦКП «Промышленные биотехнологии» и АЦКП «Биоинженерия» ФИЦ Биотехнологии РАН.

Для контакта с авторами:

Волчок Анастасия Александровна

тел.: 8 (499) 660-34-30 (доб. 152)

Короткова Ольга Генриховна

тел.: 8 (903) 749-27-22

Кондратьева Елена Геннадьевна

тел.: 8 (499) 660-34-30 (доб. 152)

тел.: 8 (495) 939-59-66

Крюков Валерий Сергеевич

e-mail: kryukov.v.s@mail.ru;

Синицына Ольга Аркадьевна

тел.: 8 (499) 660-34-30 (доб. 152)

Синицын Аркадий Пантелеймонович

тел.: 8 (499) 660-34-30 (доб. 152)

тел.: 8 (495) 939-59-66

Шашков Игорь Александрович

тел.: 8 (499) 660-34-30 (доб. 152)

