

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ФЕРМЕНТНЫХ ПРЕПАРАТОВ НА ОСНОВЕ ГРИБОВ РОДА *TRICHODERMA* ДЛЯ ПОВЫШЕНИЯ БИОДОСТУПНОСТИ КОМПОНЕНТОВ ШРОТОВ МАСЛИЧНЫХ КУЛЬТУР

**С.Н. НАЙДУН¹, Э.В. КУДЕЛЬКО¹, А.П. КУДРЯШОВ², Т.М. КОПТЕВИЧ¹,
МЕНМЕТ МУСА ОЗКАН³**

¹Учреждение Белорусского государственного университета
«Научно-исследовательский институт физико-химических проблем»,
г. Минск, Республика Беларусь, kudelia1989@mail.ru

²Белорусский государственный университет,
г. Минск, Республика Беларусь

³Department of Food Engineering, Faculty of Agricultural,
Selcuk University, 42031 Konya-Turkey

Введение. Одним из важных направлений современной биотехнологии является получение на основе микроорганизмов и использование в сельском хозяйстве различных ферментных препаратов, что стало возможным только благодаря бурному развитию биотехнологии. Ферменты и ферментные препараты на их основе микроорганизмов и грибов в настоящее время интенсивно применяются в кормопроизводстве для улучшения пищевой ценности корма и снижения затрат на производство продукции животноводства. Основным компонентом кормов сельскохозяйственных животных – растительная продукция (зерно, силос, грубые корма и др.), содержащая довольно много трудно переваримых веществ – целлюлоза, лигнин, гемицеллюлоза и др. Даже у жвачных животных, содержащих в преджелудке (рубце) активные штаммы целлюлозоразлагающих микроорганизмов, клетчатка переваривается на 40 – 65%. Не полностью перевариваются также растительные белки (60 – 80%), липиды (60 – 70%), крахмал и полифруктозиды (70 – 85%), пектиновые вещества.

В целях улучшения переваримости и повышения эффективности использования растительных кормов в рационы сельскохозяйственных животных вводят ферментные препараты (0,1 —1,5% от сухой массы корма), полученные из микроорганизмов и содержащие активные комплексы гидролитических ферментов. Препараты микробных ферментов обычно получают из культур бактерий или микроскопических грибов. Некоторые виды бактерий (например, *Vac. subtilis*) выделяют гидролитические ферменты в культуральную среду, поэтому их ферментные препараты обычно производят путем концентрирования и высушивания при определенных условиях (лиофилизацией) культуральной жидкости. Если источником ферментов являются микроскопические грибы (*Aspergillus*, *Trichoderma*, *Fusarium*), то ферментный препарат готовят путем высушивания поверхностной культуры этих микроорганизмов.

В настоящее время одними из основных и наиболее известных промышленных продуцентов гидролаз являются грибы рода *Trichoderma* [1,2]. Ферменты и ферментные препараты на основе грибов данного рода содержат следующие гидролитические ферменты (эндо-1,4-β-ксилазы, целлюлазы, эндо-1,3(4)-β-глюканазы) и имеют практическое значение при применении в кормах сельскохозяйственных животных, содержащих шрота различных видов масличных культур, а также рожь и ячмень. Указанные активности делают ферментные препараты на основе штаммов *Trichoderma* универсальными для применения во многих биотехнологических процессах. Ксилазы и целлюлазы грибов рода *Trichoderma* в составе зерновых кормосмесей осуществляют гидролиз антипитательных полимеров и позволяют снизить их негативное влияние, что имеет большое практическое значение.

Основные ферменты: целлюлаза – фермент для расщепления целлюлозы, формирующей клетчатку клеточных стенок и структурных растительных волокон. Целлюлаза действует на весь спектр как растворимых, так и нерастворимых некрахмалистых полисахаридов. Ферменты целлю-

лаза и гемицеллюлаза грибного происхождения работают на структурной клетчатке шротов (подсолнечник, соя, рапс и др.) лучше, чем бактериальные, что позволяет включать в рационы сельскохозяйственных животных повышенные нормы ввода кормов с высоким содержанием клетчатки. **Ксиланаза** (пентозаназа) – расщепляет арабиноксиланы – структурные компоненты клеточной стенки, что имеет важное значение для повышения выхода белков, пигментов, крахмала, пектина, и др. биологически активных веществ за счет разрушения клеточных стенок растительного сырья. Также ксиланаза способствует снижению вязкости химуса в желудочно–кишечном тракте и повышению доступности питательных веществ корма, а в итоге – повышению продуктивности и повышению эффективности использования кормов. **β–глюканаза** – расщепляет растворимые и нерастворимые β–глюканы в коротко–цепочные полисахариды и молекулы глюкозы, в результате чего сильно снижается вязкость химуса в желудочно–кишечном тракте, а в итоге – улучшается конверсия кормов и интенсивность роста сельскохозяйственных животных и птицы. β–глюканы позволяют включать повышенное количество ячменя и овса в корма сельскохозяйственных животных и птицы, не ухудшая показателей продуктивности.

Дополнительные ферменты:

- α–галактозидаза;
- ксилоглюканаза;
- ацетилестераза;
- α–L-арабинофуранозидаза;
- α–ксилозидаза;
- экзо–1,3–(4)–β–глюканаза;
- целлобиогидролаза;
- β–глюкозидаза;
- пектиназа;
- полигалактуроназа;
- эндо–1,4–β–маннаназа.

В настоящее время известно несколько ферментных препаратов на основе различных штаммов микроскопических грибов рода *Trichoderma*.

Из штамма *T. reesei (viride)* ВСМ 18,2/КК2 производят ферментные препараты «Целловиридин Г20Х», «Термамил» и «Фекорд У–4». На основе штамма гриба *T. longibrachiatum* TW–1 получают «Ксибетен–Ксил» или «Ксибетен–Цел», «Вилзим». Препарат «Вилзим» – это универсальная мультиэнзимная композиция, состоящая из различных ферментов, расщепляющих все некрахмалистые полисахариды и олигосахариды зернового сырья, соевого, подсолнечного и рапсового шрота и жмыха.

«Вилзим» положительно влияет на усвоение аминокислот, минеральных веществ, особенно фосфора, высвобожденного из фитина, и на повышение обменной энергии корма для всех видов домашней птицы и животных.

Такое разнообразие ферментных препаратов требует более детального исследования их особенностей применения для различных видов растительного сырья.

В связи с этим, целью нашей работы было изучение влияния ферментных препаратов «Целловиридин Г20Х» и «Вилзим» на питательную ценность и содержание низкопитательных компонентов рапсового шрота.

Для достижения поставленной цели необходимо было решить следующие задачи:

- изучить эффект ферментных препаратов «Целловиридин Г20Х» и «Вилзим» на содержание водорастворимых белков рапсового шрота;
- изучить влияние ферментных препаратов «Целловиридин Г20Х» и «Вилзим» на соотношение моно/полисахаридов в рапсовом шроте;
- разработать рекомендации для комбикормовой промышленности по увеличению питательной ценности шротов масличных культур.

Методика и объекты исследования. В качестве объекта исследования был выбран рапсовый шрот (содержит 31% – 45% протеинов, 25% –36% углеводов и около 5% – 7% жиров). Наблюдали за изменением питательной ценности рапсового шрота под воздействием ферментных препаратов «Целловиридин Г20Х» и «Вилзим». Изменения определяли по содержанию в его гидролизате растворимых белков и углеводов, а также аминокислот до и после ферментативного гидролиза.

Рапсовый шрот (50г) заливали кипяченой водой (200мл) и выдерживали 1 час на водяной бане при 90°С. Затем запаренный шрот охлаждали до 55°С, 45°С, 35°С и 25°С и при постоянном помешивании вводили ферментные препараты «Целловиридин Г20Х» и «Вилзим» в концентрации

0,1% к сухой массе. Опытные образцы экспонировали на водяной бане при соответствующей эксперименту температуре. Для биохимического анализа отбирали пробы через 1, 2, 4, 6 часов.

Белок определяли методом электрофореза в полиакриламидном геле (ПААГ) в вертикальном слое в щелочной системе с додецилсульфатом Na (ДСН) по методу *Laemmli* с некоторыми модификациями по методу Лоури. Интенсивность окраски измеряли на спектрофотометре при длине волны 750 нм.

Содержание сахаров в пробах определяли по калибровочной кривой, построенной по растворам глюкозы известной концентрации. Оптическую плотность исследуемых растворов регистрировали на спектрофотометре при длине волны 582 нм.

Результаты и их обсуждение. Биологическая ценность шротов связана с содержанием в них полиненасыщенных эссенциальных жирных кислот (олеиновой, линолевой и линоленовой). Также включение шротов в комбикорма обусловлено их низкой стоимостью и наличием значительного количества белка. Белок рапсового шрота богат такими незаменимыми аминокислотами, как лизин, метионин, цистин, треонин. Однако эти ценные питательные вещества находятся в тесном взаимодействии с углеводами и липидами в клеточных структурах шрота и, следовательно, степень их биодоступности невелика. Поэтому, изучался физико-химический оптимум действия ферментных препаратов «Целловиридин Г20Х» и «Вилзим».

Известно, что ферменты гриба рода *Trichoderma* высокоэффективны в верхних зонах двенадцатиперстной кишки. Большая часть корма через 5 часов из желудка переходит в кишечник. Согласно полученным данным, за 5 часов при физиологических условиях желудка ксиланазная активность уменьшается на 40%, с сохранением 60% исходной активности для работы в кишечном тракте. Ксиланазный комплекс *Trichoderma* снижает вязкость раствора некрахмалистых полисахаридов в пищеварительном тракте животных.

На начальном этапе проведения исследований были подобраны условия обработки рапсового шрота (температурные, pH, временные и концентрационные – соотношение воды и шрота) ферментными препаратами. Данные представлены на рисунках 1, 2.

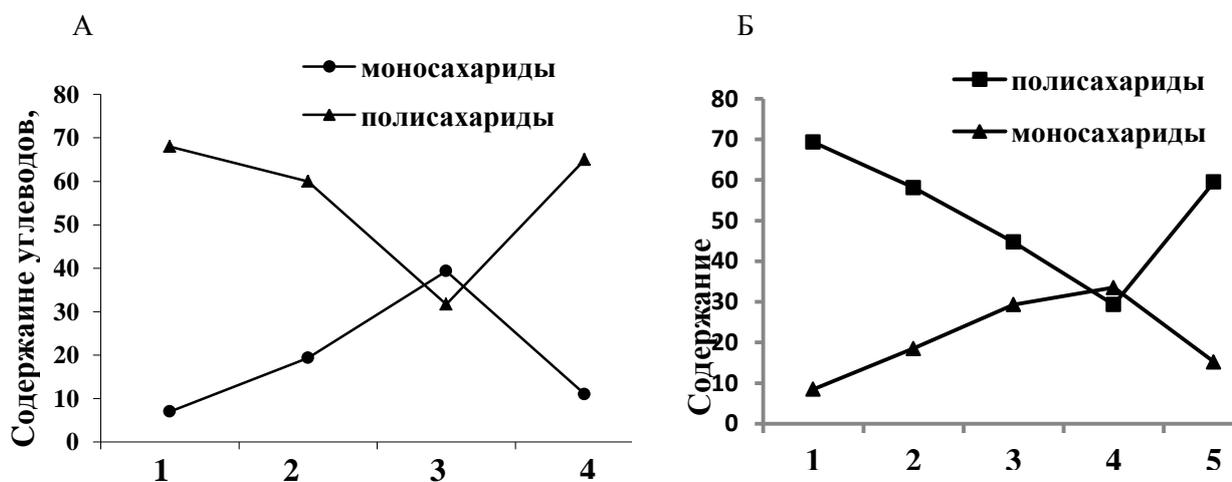


Рисунок 1 – Температурная зависимость изменения содержания моно- и полисахаридов в гидролизате рапсового шрота под воздействием «Целловиридин Г20Х» (А) и «Вилзим» (Б)
1 – 25; 2 – 35; 3 – 45; 4 – 55; 5 – 65°С

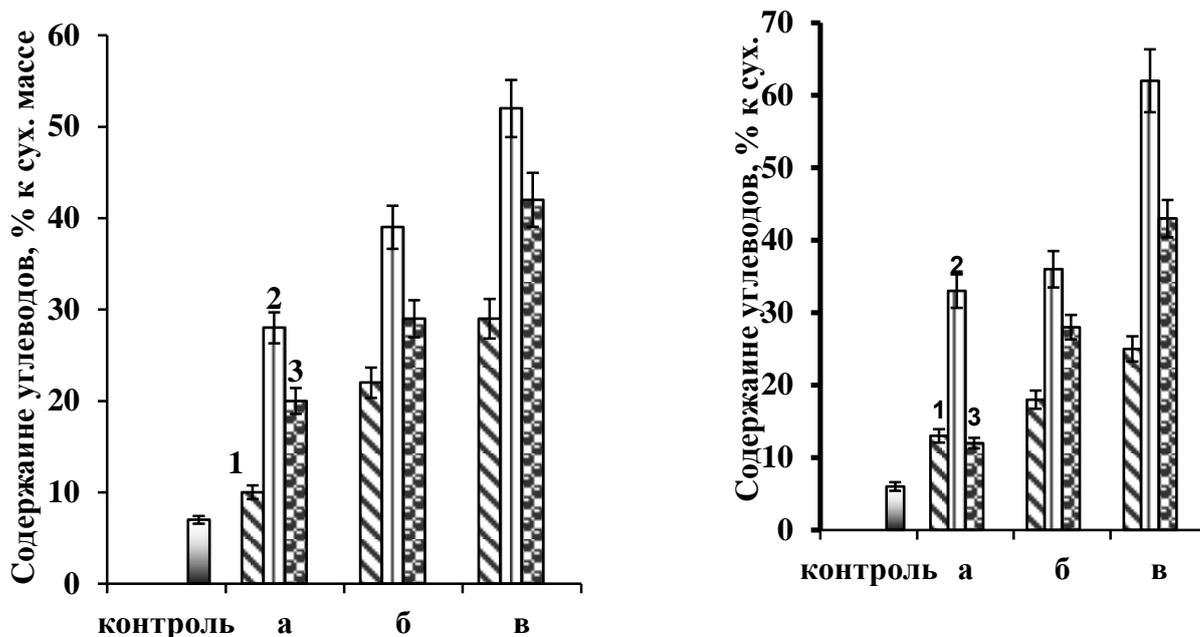


Рисунок 2 – Временная и pH зависимости изменения содержания моно– и полисахаридов в гидролизате из рапсового шрота под воздействием «Целловиридин Г20Х» (А) и «Вилзим»(Б) а – 2 ч, б – 4 ч, в – 6 ч. Значения pH проб: 1 – 3,0; 2 – 5,5; 3 – 6,8

Установлено: наилучшая температура среды для действия ферментного препарата «Целловиридин Г20Х» – 45°C. Оптимальное время воздействия препарата – 5–6 часов, pH – 5,5. Температурный оптимум среды ферментного препарата «Вилзим» – 50–55°C. Оптимальное время воздействия препаратов «Вилзим» и «Целловиридин Г20Х» практически совпадают.

Далее изучалось влияние ферментных препаратов «Целловиридин Г20Х» и «Вилзим» на содержание водорастворимых белков в гидролизате рапсового шрота – рисунок 3.

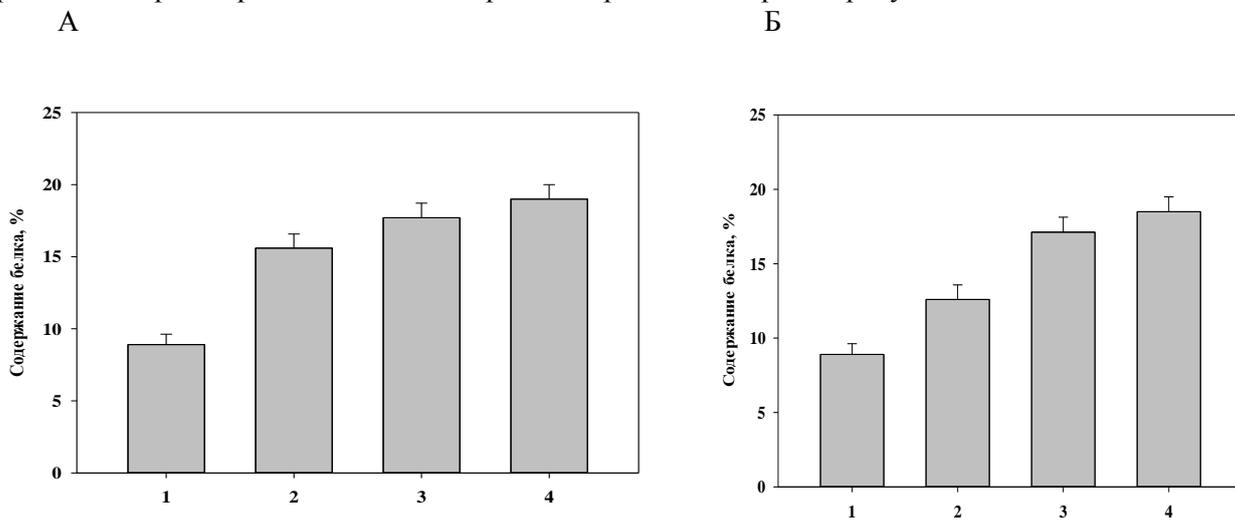


Рисунок 3 – Изменение содержания белка в водорастворимой фракции из рапсового шрота под влиянием ферментных препаратов «Целловиридин Г20Х» (А) и «Вилзим» (Б) 1 – контроль; 2 – 2 ч; 3 – 4 ч, 4 – 6 ч

Как видно из данных, представленных на рисунке 3 (А), ферментативный гидролиз рапсового шрота препаратом «Целловиридин Г20Х» способствовал постепенному увеличению содержания водорастворимых белков в водной фракции на протяжении всего времени воздействия от 8,9% в контрольном образце и до 18% в опытном. Временной оптимум препарата «Вилзим» находится в пределах 2–4 ч – рисунок 3 (Б).

Был проведён качественный анализ аминокислотного состава гидролизата рапсового шрота после воздействия препаратов «Целловиридин Г20Х» и «Вилзим». Данные представлены в таблице.

Видно, что после обработки ферментным препаратом «Вилзим» обнаруживаются не выявленные ранее аминокислоты лизин и метионин. Это служит подтверждением предположения о том, что ферменты препарата, либо рапсового шрота осуществляют частичную деструкцию находящихся в них полипептидов.

Таблица – Аминокислотный состав рапсового шрота

	контроль					пробы после 4 ч. ферментативной обработки				
	Арг*	Лиз*	Мет*	Трео*	Цист*	Арг*	Лиз*	Мет*	Трео*	Цист *
Рапсовый шрот	+	–	–	+	–	+	+	+	+	–

* – сокращение аминокислот:

Арг – аргинин;

Лиз – лизин;

Мет – метионин;

Трео – треонин;

Цист – цистин.

Выводы. Получены результаты о влиянии ферментных препаратов на основе грибов рода *Trichoderma* на увеличение питательной ценности рапсового шрота. Показано, что ферментные препараты «Целловиридин Г20Х» и «Вилзим» способствовали увеличению содержания водорастворимых компонентов в гидролизате рапсового шрота. Временной, температурный и рН оптимумы исследуемых препаратов отличаются не существенно и, тем не менее, позволяют рекомендовать их, учитывая физиологию сельскохозяйственных животных, следующим образом: «Целловиридин Г20Х» преимущественно включать в корма для свиней и КРС, «Вилзим» – для птицы.

ЛИТЕРАТУРА

1. Макрушин Н.М., Строна И.Г., Семеноводство зерновых кормовых и масличных культур. – К.: Урожай, 1986. – 173с.
2. Босенко А.М., Петров П.Т. и др. Ферментные кормовые добавки для комбикормовой промышленности. // Известия Белорусской инженерной академии. № 4– Мн., 1999. – С. 23.