

АКТИВНОСТЬ УРЕАЗЫ В СОЕВОМ ШРОТЕ. НОВЫЙ ВЗГЛЯД

Н. РУИС, доктор наук, компания «Нелсон Руис Ньютишин ЛЛС», США

Как только было установлено, что термическая обработка соевых бобов (Осборн и Мендел, 1917) повышает их питательную ценность, выявление, количественная оценка и снижение содержания антипитательных факторов стали играть основную роль при оценке качества продуктов переработки сои, особенно соевого шрота. В 1944 г. исследователи Кэски и Кнэпп разработали метод оценки соевого шрота, подвергнутого неправильной термообработке. Метод основан на измерении активности фермента уреазы, содержащейся в соевых бобах. На основании этой базовой работы ведущие профессиональные ассоциации химиков — Американское общество химиков-жировиков (AOCS, 2011) и Американская ассоциация зерновых химиков (AACC, 1995) — разработали, стандартизировали и опубликовали достаточно простую, понятную и воспроизводимую методику. Был принят интервал активности уреазы, или диапазон изменений показателя pH, от 0,05 до 0,20, который соответствовал достаточной термообработке соевого шрота для животных с однокамерным желудком. При изменении ΔpH менее чем на 0,05 ед. возникали опасения, что соевый шрот подвергался избыточному нагреву, а при изменении более чем на 0,20 ед. делался вывод о его недостаточной термической обработке и о наличии в нем антипитательных факторов.

Впервые сомнения в правильности выбранного диапазона pH были высказаны в 1987 г. Дейлом и соавторами, которые доказали в работе, что использование нижней границы ΔpH не обосновано для практических целей и что определение активности уреазы не является подходящим методом для анализа пережаренного соевого шрота. Они описали соотношение *in vitro* / *in vivo* между растворимостью протеина в гидроокиси калия и характеристиками роста цыплят-бройлеров для правильно обработанного и для пережаренного соевого шрота. На практике получилось, что значение pH 0,000 необязательно свидетельствует о том, что соевый шрот был подвергнут излишней термообработке, а просто показывает нулевую активность уреазы.

Несмотря на то что значение верхней границы изменений показателя pH использовалось в течение многих лет, в 1975 г. Хэйвард предложил установить верхнюю границу на отметке 0,30 ед. pH (такое значение до сих пор применяют в Бразилии), а Уолдруп и соавторы (1985) предположили, что границу следует поднять даже выше — до отметки 0,50.

Цель настоящей статьи заключается в представлении и обсуждении доводов в защиту применения переработчиками маслосемян и птицеводами нового диапазона активности уреазы (изменение pH) — 0,000–0,050 ед. pH.

Взаимосвязь между содержанием ингибиторов трипсина и активностью уреазы. Прежде чем обсуждать проблему верхней границы, важно напомнить, что совместное определение активности уреазы объясняется тем, что это достаточно быстрый и доступный способ оценки остаточной активности антипитательных факторов после обработки соевого шрота и полножирной сои. При более серьезном исследовании биологической взаимосвязи между активностью уреазы и содержанием ингибиторов трипсина в соевом шроте не обнаруживается. Несмотря на установленный факт наличия в составе соевого шрота антипитательных веществ, оказывающих неблагоприятное воздействие на характеристики роста птицы, уреаза не является для нее токсичным белком и не вызывает особой обеспокоенности у специалистов по кормлению животных с однокамерным желудком. Связь между уреазой и ингибиторами трипсина заключается только в одновременной инактивации этих веществ при термической обработке соевых продуктов в условиях достаточной влажности. Активность уреазы, в отличие от содержания ингибиторов трипсина, легко измерить, поэтому этот показатель стал использоваться в качестве «индикатора» активности ингибиторов трипсина. Несмотря на то что активность уреазы определялась уже с 1940-х годов, аналитический метод измерения содержания ингибиторов трипсина в сое был опубликован лишь в 1969 г. (Какайд и соавторы), который впоследствии был модифицирован Хамерстрандом и соавторами (1981) и стандартизирован Международной организацией по стандартизации в 2001 г.

Были проанализированы две независимые базы данных для установления взаимосвязи между содержанием ингибиторов трипсина и активностью уреазы. В таблице 1 представлены данные, опубликованные Мустакасом и соавторами (1981) в работе о критических факторах обработки соевого шрота. Они получены на основании исследований 24 образцов шрота, выработанного из одного сорта сои и подвергнутого различным режимам обработки на экспериментальной установке. Вторая база данных, приведенных в таблице 2, основана на результатах анализа 104 образцов соевого шрота различного происхождения: США, Аргентина, Бразилия и Боливия. Анализ проводился

в 2008–2012 гг. компанией «Ньютрианализис» (Белалказар и Оталора, 2012). Было показано, что связь между содержанием ингибитора трипсина (x , мг/г) и активностью уреазы (y , ед. рН) выражается прямолинейной зависимостью и может быть описана уравнением:

$$y = 0,0738x - 0,1224, \text{ при } R^2 = 0,9748.$$

Таким образом, обе базы характеризуются достаточно значимой взаимосвязью (R^2) между содержанием ингибиторов трипсина и активностью уреазы. Они подтверждают тот факт, что путем измерения активности уреазы в соевом шроте можно оценить содержание в нем ингибиторов трипсина.

Почему верхняя граница диапазона активности уреазы должна быть пересмотрена и снижена до 0,050 ед. рН?

С 2005 г. исследователи отмечают связь высокого содержания ингибиторов трипсина в соевом шроте со вспышками дисбактериоза у бройлеров (Руис и Белалказар, 2005). В данном случае помет цыплят меняет консистенцию на

Таблица 1. Взаимосвязь между содержанием ингибиторов трипсина и активностью уреазы* на основании анализа 24 образцов соевого шрота*

Содержание ингибиторов трипсина, мг/г	Активность уреазы, рН	Содержание ингибиторов трипсина, мг/г	Активность уреазы, рН
3,3	0,03	4,8	1,24
2,6	0,27	2,7	0,17
3,7	0,35	8,2	1,83
4,3	0,20	4,6	1,05
5,2	1,61	2,9	0,15
8,5	1,92	3,4	0,11
4,1	0,36	3,7	0,45
6,1	1,04	7,7	1,18
2,8	0,02	1,6	0,05
6,1	1,36	8,3	1,97
5,7	0,33	7,5	1,69
2,7	0,02	3,6	0,21

* $R^2 = 0,8053$.

Таблица 2. Взаимосвязь между содержанием ингибиторов трипсина и активностью уреазы на основании анализа 104 образцов соевого шрота*

Содержание ингибиторов трипсина, мг/г	Активность уреазы, рН	Содержание ингибиторов трипсина, мг/г	Активность уреазы, рН
1,75	0,015	5,50	0,292
1,81	0,024	7,00	0,382
2,02	0,040	7,50	0,450
1,81	0,011	6,00	0,290
2,00	0,023	6,00	0,276
1,70	0,005	9,00	0,530
1,92	0,032	4,00	0,152
3,56	0,120	6,20	0,321
3,60	0,120	5,50	0,285
3,71	0,129	5,20	0,257
1,90	0,021	7,50	0,430
2,10	0,032	8,00	0,502
3,56	0,108	9,50	0,550
3,40	0,127	9,00	0,510
1,82	0,020	7,90	0,452
1,88	0,014	8,20	0,445
2,15	0,025	7,00	0,412
2,25	0,020	6,50	0,320
2,30	0,024	7,25	0,355
1,95	0,020	6,90	0,402
1,95	0,050	6,50	0,482
2,10	0,049	6,00	0,320
2,82	0,050	5,50	0,300
2,18	0,060	7,90	0,450
2,12	0,047	5,82	0,320
2,02	0,020	5,75	0,290
2,09	0,031	5,50	0,310
1,80	0,020	6,80	0,405
2,09	0,031	5,95	0,300

Содержание ингибиторов трипсина, мг/г	Активность уреазы, рН	Содержание ингибиторов трипсина, мг/г	Активность уреазы, рН
1,80	0,020	7,00	0,480
1,78	0,007	6,85	0,350
1,75	0,010	6,92	0,420
1,65	0,000	7,12	0,440
4,50	0,198	5,92	0,325
3,05	0,080	5,40	0,285
2,85	0,030	5,00	0,312
1,70	0,000	6,52	0,425
2,10	0,060	6,20	0,355
3,80	0,090	6,90	0,415
1,80	0,020	4,20	0,250
1,76	0,020	4,07	0,157
2,15	0,050	6,40	0,335
1,55	0,000	4,00	0,146
1,50	0,000	9,50	0,600
1,62	0,000	8,24	0,480
1,72	0,060	7,20	0,420
1,85	0,016	6,95	0,380
1,88	0,032	9,20	0,520
3,50	0,107	—	—
2,10	0,009	—	—
3,80	0,139	—	—
3,96	0,142	—	—
1,75	0,006	—	—
1,70	0,001	—	—
2,14	0,024	—	—
3,20	0,072	—	—

* $R^2 = 0,9748$.

водянистую, содержит непереваренные остатки корма и отшелушившиеся фрагменты ткани кишечника, теряет характерный белый налет мочевой кислоты, имеет желтовато-оранжевый цвет (см. рисунок). Цыплят-бройлеры из стада, переживающего синдром дисбактериоза, отличаются грязным оперением, неоднородностью по весу, бледным окрасом. В результате ухудшается конверсия корма, вес птицы значительно уступает принятому стандарту — все это приводит к значительным экономическим убыткам.

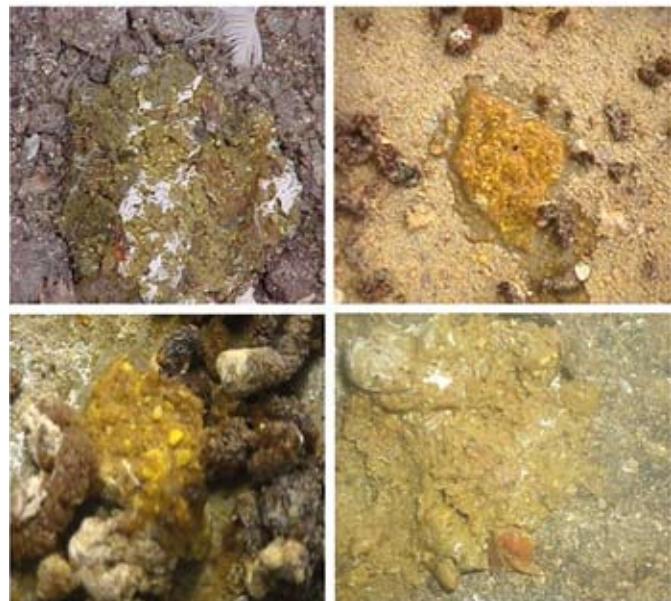
В 2005 г. на основании анализа шести вспышек дисбактериоза исследователи Руис и Белалказар пришли к следующему выводу: он возникает в том случае, когда в рацион бройлеров вводится около 20% соевого шрота, в 1 г которого содержится более 3,5 мг ингибиторов трипсина. Накопленные за несколько лет (2005–2012) данные по анализу большого количества вспышек дисбактериоза в промышленном птицеводстве на севере Южной Америки подтверждают мнение о том, что оптимальная остаточная концентрация ингибиторов трипсина в соевом шроте не должна превышать 2,0 мг/г при условии, что растворимость протеина в гидроокиси калия будет составлять не менее 78%.

Какова же тогда взаимосвязь между верхней границей диапазона активности уреазы и синдромом дисбактериоза?

Очень простая, как показывает ретроспективный анализ. В таблице 3 обобщены результаты анализов активности уреазы и содержания ингибиторов трипсина в тех промышленных партиях соевого шрота, которые были

**Таблица 3. Активность уреазы и содержание ингибиторов трипсина в соевом шроте во время вспышек дисбактериоза в некоторых странах
(данные H. Ruisa, 2012)**

Страна	Активность уреазы, pH	Содержание ингибиторов трипсина, мг/г	Синдром дисбактериоза
Эквадор	0,01	1,90	Нет
Колумбия	0,02	2,20	Нет
Эквадор	0,03	2,40	Нет
Колумбия	0,03	2,40	Нет
Колумбия	0,05	2,60	Нет
Венесуэла	0,06	2,80	Нет
Перу	0,08	4,00	Да
Колумбия	0,08	4,04	Да
Перу	0,09	4,20	Да
Колумбия	0,14	4,82	Да
Эквадор	0,17	5,50	Да
Венесуэла	0,19	5,60	Да
Колумбия	0,25	6,00	Да
Колумбия	0,28	6,80	Да
Колумбия	0,29	5,90	Да
Колумбия	0,33	7,29	Да



Внешний вид помета цыплят-бройлеров, страдающих синдромом дисбактериоза
(опубликовано в журнале Feedstuffs
в №5 от 30 января 2012 г., вып. 84)

причастны к шести вспышкам дисбактериоза в стадах цыплят-бройлеров (ниже пунктирной линии), а также результаты анализа тех партий соевого шрота, которые не вызвали негативных последствий в эти же временные сроки и в тех же регионах.

Эти вспышки произошли в четырех странах в период с 1998 по 2004 гг. Синдром дисбактериоза наблюдался при значениях активности уреазы выше 0,06 ед. pH. Вместе с тем рекомендуемая сегодня верхняя граница диапазона активности уреазы 0,20 ед. pH означает, что соевый шрот с таким качеством пригоден к скармливанию цыплятам-бройлерам. Так как окончательное содержание ингибиторов трипсина в корме зависит от уровня включения соевого шрота или полножирной сои в рацион и содержания в них ингибиторов трипсина, целесообразно разрабатывать рецепты комбикормов для конкретной максимальной концентрации ингибиторов трипсина в корме. Если, например, содержание ингибиторов составляет 2 мг в 1 г шрота, то при его вводе в комбикорм в количестве 25% оно составит 0,50 мг в 1 г корма (при условии отсутствия других источников этих антипитательных веществ). Как показывает мой многолетний опыт работы, 0,54–0,58 мг ингибиторов трипсина в 1 г корма — допустимое содержание для цыплят-бройлеров в возрасте 40–42 суток. Следовательно, соответствующее значение активности уреазы для соевого шрота не должно превышать 0,050 ед. pH.

О том, почему диапазон активности уреазы, который был эффективным в течение нескольких десятилетий, а теперь таковым не является, читайте в следующем номере. ■