

DOI 10.25741/2413-287X-2020-10-3-122

УДК 636.5.084

# УСТАНОВЛЕНИЕ ФЕРМЕНТАТИВНОЙ АКТИВНОСТИ ПРЕПАРАТА *IN VITRO*

**Н. ВОРОБЬЕВА**, д-р с.-х. наук, **А. МОСИН**, ФГБОУ ВО «Нижегородская государственная сельскохозяйственная академия»

**В. ГАЛКИН**, канд. с.-х. наук, АО «Линдовская птицефабрика — племенной завод»

**Н. ЩЕЛЧКОВА**, канд. биол. наук, ЦНИЛ ГБОУ ВО «Приволжский исследовательский медицинский университет» Минздрава РФ

E-mail: ush\_bor@mail.ru

*В исследованиях in vitro установлена максимальная протеолитическая активность экспериментального ферментного препарата ВП-1. При его концентрации 0,005% выявлено снижение количества белка в исследуемом растворе, что подтверждает способность данного фермента к расщеплению белка. Рекомендуемая доза препарата для использования в комбикормах составляет 500 г/т.*

Ключевые слова: протеолитические ферменты, протеаза, оптимальная дозировка, корма, комбикорма, бройлеры, протеиновая и аминокислотная питательность.

Полноценное, сбалансированное кормление сельскохозяйственной птицы — один из главных факторов, положительно влияющих на ее продуктивность и здоровье, на качество конечной продукции (яйца и мясо), и в целом на эффективность промышленного птицеводства. Особое внимание при составлении рационов птицы уделяется их обеспеченности протеином. Из-за постоянного роста цен как на источники кормового белка, так и на другие компоненты производители вынуждены искать новые пути удешевления рационов кормления и повышения усвояемости питательных веществ из более дешевых видов сырья. Актуальным решением в этих условиях становится использование в комбикормах биологически активных добавок, обладающих ферментативной активностью. К таковым относится, в частности, протеаза, активно набирающая популярность в кормлении животных и птицы во всем мире. По мнению ряда экспертов, именно рынок протеазы ждет наиболее динамичное развитие в ближайшее время, как в России, так и за рубежом. По данным Feedlot.ru, в 2018 г. в Россию было ввезено свыше 680 т кормовой протеазы.

Протеаза — это протеолитический фермент, который обеспечивает максимально эффективное использование белковой составляющей комбикормов, сокращая ввод ряда дорогих компонентов. Энзимы улучшают переваримость и усвояемость питательных веществ, устраняют или снижают отрицательное влияние антипитательных

*The in vitro study revealed high proteolytic activity of experimental enzymatic preparation VP-1. At concentration 0.005% the preparation effectively hydrolyzed protein in the solution. The recommended dose of the preparation for supplementation of compound feeds is 500 ppm.*

Keywords: proteolytic enzymes, protease, optimal dose, feed-stuffs, compound feeds, broilers, dietary contents of protein and amino acids.

факторов, восполняют дефицит эндогенных ферментов на ранних стадиях развития молодняка, когда выработка собственных ферментов затруднена. Современные кроссы бройлеров более чувствительны к уровню усвояемых аминокислот, нежели к содержанию энергии рациона, поэтому необходимо перераспределять затраты в программе по расчету рационов от энергии к аминокислотам. Содержание аминокислот правильнее оптимизировать с учетом действия экзогенных ферментов. Помимо снижения стоимости корма, применение протеазы позволяет существенно сократить загрязнение воздуха в животноводческих помещениях аммиаком, благотворно влияя на здоровье и продуктивность животных, а также содействуя в решении проблемы общей экологической обстановки вокруг территорий свиноводческих комплексов и птицефабрик.

Цель исследований — определение *in vitro* протеолитической активности и выбор оптимальной дозировки экспериментального ферментного препарата ВП-1. Для этого моделировались условия, характерные для внутренней среды желудка птицы (рН = 3,5). Определение количества белка проводилось биуретовым методом с использованием комбикормов для бройлеров в разные периоды откорма, до и после воздействия опытных образцов ферментного препарата ВП-1 в различной концентрации (X1 и X2).

Нами были проведены три серии экспериментов по схеме, указанной в таблице 1.



Таблица 1. Схема опыта

Серия	Вариации концентраций		
1	Стартер + X1	Стартер + X2	Стартер + H <sub>2</sub> O
2	Гровер + X1	Гровер + X2	Гровер + H <sub>2</sub> O
3	Финишер + X1	Финишер + X2	Финишер + H <sub>2</sub> O

При подготовке проб к исследованию 10 г препарата ВП-1 образца X2 растворяли в 100 мл буфера (10%-ный раствор). Параллельно приготовили 0,1%-ный раствор образца X1 и произвели его разведение. Для каждого вида комбикорма приготовили 10%-ные растворы (10 г корма на 100 мл буфера или 1 г на 10 мл), которые инкубировали в течение 30 мин при температуре 38°C. Рабочие растворы кормов помещали в пробирки (три образца по 3 мл). В две пробирки добавляли по 3 мл раствора образцов X1 и X2, в третью пробирку — 3 мл воды (контрольная проба). После взбалтывания содержимого пробирок их помещали в термостат, где выдерживали в течение 40 мин при температуре 38°C. Оставшуюся часть раствора корма нейтрализовали 0,1 N раствором NaOH и центрифугировали в течение 30 мин при 3000 об/мин. Отобрали супернатант, в котором определили первоначальный уровень белка. После инкубации содержимое пробирок нейтрализовали раствором 0,1 N раствором NaOH и центрифугировали 30 мин при 3000 об/мин. Затем измеряли количество белка после воздействия ферментного препарата. Измерения сравнивали с контрольным образцом.

При применении экспериментального ферментативного препарата ВП-1 в различной концентрации образцов (X1 и X2) наблюдалось изменение содержания белка в растворах, что подтверждает способность фермента к расщеплению белка, то есть его протеолитическую активность (табл. 2).

Оптимальные результаты были получены для всех видов корма (стартера, гровера и финишера) при применении образца X1 в разведении 0,005%. Хорошие результаты в экспериментах показал также образец X2: со стартером — в разведении 0,5%, с гровером — 1%, с финишером — в разведении 0,5%. Однако эти результаты свидетельствуют о нестабильной его работе в различных концентрациях.

Таким образом, в исследованиях *in vitro* установлена максимальная протеолитическая активность экспериментального ферментного препарата ВП-1. При его концентрации 0,005% выявлено снижение количества белка в исследуемом растворе, что подтверждает способность данного фермента к расщеплению белка. Рекомендуемая доза препарата для использования в комбикормах составляет 500 г/т.

Таблица 2. Изменение содержания белка в растворе корма после применения ферментного препарата

Вид корма	Разведение, %	Показатели оптической плотности, экстинкция	Содержание белка в растворе корма, мг/мл
Стартер до реакции	10,0000	0,103	10,374
Стартер + X1	0,0200	0,065	6,547
Стартер + X1	0,0100	0,065	6,547
Стартер + X1	0,0050	0,066	6,647
Стартер + X1	0,0025	0,065	6,552
Стартер + X2	5,0000	0,080	8,021
Стартер + X2	2,0000	0,072	7,252
Стартер + X2	1,0000	0,070	7,050
Стартер + X2	0,5000	0,069	6,950
Гровер до реакции	10,0000	0,117	11,784
Гровер + X1	0,0200	0,071	7,151
Гровер + X1	0,0100	0,070	7,050
Гровер + X1	0,0050	0,065	6,547
Гровер + X1	0,0025	0,071	6,984
Гровер + X2	5,0000	0,126	12,691
Гровер + X2	2,0000	0,070	7,050
Гровер + X2	1,0000	0,067	6,748
Гровер + X2	0,5000	0,070	7,050
Финишер до реакции	10,0000	0,092	9,266
Финишер + X1	0,0200	0,072	7,252
Финишер + X1	0,0100	0,069	6,950
Финишер + X1	0,0050	0,065	6,547
Финишер + X1	0,0025	0,068	6,836
Финишер + X2	5,0000	0,076	7,655
Финишер + X2	2,0000	0,067	6,748
Финишер + X2	1,0000	0,066	6,647
Финишер + X2	0,5000	0,063	6,345

#### Литература

1. Биссвангер, Х. Практическая энзимология / Х. Биссвангер. — М.: Бинوم. Лаборатория знаний, 2010. — 328 с.
2. Шастак, Е. Аддитивность и инфляция матричных значений ферментов / Е. Шастак // Комбикорма. — 2015. — № 7–8. — С. 81–82.
3. Гамаюрова, В. С. Ферменты. Лабораторный практикум / В. С. Гамаюрова, М. Е. Зиновьева. — М.: Проспект науки, 2011. — 256 с.
4. Bedford, M. R. Exogenous enzymes for pigs and poultry / M. R. Bedford, H. Schulze // Nutrition Research Reviews. — 1998. — 11. — P. 91–114.
5. Remus, J. Poultry enzyme/probiotic combo / J. Remus // Feedstuffs. — 2014. — Vol. 86. — № 04. ■