

ДЛЯ ЧЕГО УЛУЧШАЮТ ФЕРМЕНТЫ И КАК ОПРЕДЕЛИТЬ ИХ АКТИВНОСТЬ НА ПРАКТИКЕ

Сегодня на российском кормовом рынке присутствует широкий ассортимент ферментных препаратов. Их перечень постоянно обновляется новыми продуктами, различными их комбинациями, создаваемыми для выполнения определенных задач. Пожалуй, уже не осталось тех производителей, которые не используют в составе комбикормов эти продукты-катализаторы пищеварительных процессов. В своей практике они сталкиваются с некоторыми трудностями, например, с выбором эффективного ферментного препарата, методами определения активности ферментов, применением матриц при расчете рационов и др.

В связи с этим мы попросили доктора аграрных наук **Евгения Шастака**, представителя компании BASF — одного из ведущих производителей ферментных препаратов, рассказать, как компания отвечает на вызовы времени, какие применяет методы по усовершенствованию ферментных продуктов, и ответить на вопросы наших читателей — специалистов отрасли.

Что является отличительной особенностью предлагаемых компанией BASF ферментных препаратов?

На сегодняшний день отдел разработки ферментов компании BASF имеет самую большую в мире их коллекцию. Источниками этой коллекции являются пробы из почвы и воды, собранные со всех уголков нашей планеты и из экосистем с экстремальными условиями существования. Вулканы и гидротермальные источники, тропический лес и арктическая тундра — богатые источники микроорганизмов, способных вырабатывать различные ферменты. Что еще более интересно, экстремальные условия — температура, давление, кислотность — аналогичны таковым при индустриальном производстве комбикормов, а также протекающим в пищеварительном тракте животных и птицы процессам. Другими словами, если найденный нами фермент преуспевает в природе, то возможно, что он справится со своей задачей и в условиях производства.

С помощью самых продвинутых технологий и робототехники BASF способен анализировать до одного миллиарда проб (ферментов-кандидатов) в день, что значительно увеличивает нашу способность идентифицировать наилучшие энзимы, созданные природой на нашей планете. С помощью специальных технологий (Direct Evolution®) и методов гибридизации (создание гибридных ферментов) мы способны дополнительно улучшать раз-

личные ферменты по всевозможным показателям. Эти процессы помогают нам создавать лучшие коммерческие ферменты в мире из лучших ферментов-кандидатов, идентифицированных в природе. Ферменты BASF имеют улучшенную специфичность к субстрату, высокую термостабильность, оптимизированный диапазон pH, сниженный уровень ингибирования, усиленную резистентность к пищеварительным ферментам (пепсин, трипсин), резистентность к разрушению, повышенную силу связывания, усовершенствованную общую стабильность и др.

Какими свойствами отличается новая гибридная фитаза Натуфос® Е от препарата Натуфос®? Какой диапазон pH оптимальной активности, устойчивость к протеазам ЖКТ, в каком его месте проявляется максимальное действие?

Натуфос Е — это первый в мире гибридный фермент в кормлении. Он был создан из трех различных бактериальных источников. Инновационный метод ферментной инженерии, который использовался при создании Натуфос Е, позволил скомбинировать в одном конечном продукте лучшие свойства трех различных фитаз. Композитный (обладающий свойствами, не присущими исходным единичным частям) гибридный фермент значительно превосходит по биоэффективности, стабильности и термостабильности каждый отдельный фермент, из которых Натуфос Е был создан. Этим и объясняется преимущество гибридности кормовой фитазы.

Натуфос Е превосходит классический Натуфос по всем показателям, начиная с биоэффективности и заканчивая общей стабильностью и термостабильностью. Натуфос Е также более резистентен к действию протеаз (пепсин, трипсин) в ЖКТ и обладает оптимизированным диапазоном pH для работы в заданных сегментах пищеваритель-

BASF
We create chemistry

ООО «БАСФ»
125167, Москва,
Ленинградский проспект, 37А, корп. 4
Ирина Колесник
Тел. +7 (495) 225-7159
E-mail: irina.kolesnik@basf.com

Расчет активности ксиланазы вискозиметрическим методом

Фактор	(0,48897)×0	-(1,09069)×1	(0,83348)×2	-(0,21459)×3	r ² = 0,9971
Контроль:		96,36%			
Расчетные цифры		Назначенная активность S 160	780000 EXU/г	Метод:	Расчетные цифры
<i>Лаборант</i>					
		EXU/мл	Время падения	Анализ	Отклонение
	BLW II	0,000000	1,580	0 EXU/г	—
	Станд.-1, Lsg. A:	0,0103272	1,141	779804 EXU/г	-0,03%
	Станд.-2, Lsg. B:	0,0206544	0,970	731570 EXU/г	-6,21%
	Станд.-3, Lsg. A:	0,0328073	0,841	797919 EXU/г	+2,30%
	Станд.-4, Lsg. B:	0,0449009	0,765	804194 EXU/г	+3,10%
	Станд.-5, Lsg. A:	0,0541320	0,733	760815 EXU/г	-2,46%
по.	Вес, г	Разведение	Время падения	EXU/г	EXU/кг
С 199	1,6110	5000000	0,963	61882	61882332
С 199	1,6412	5000000	0,964	60493	60493192

ного тракта. Единственной общей чертой между Натуфос и Натуфос Е является название.

Если у классического Натуфос два pH-оптимума при значениях 2,2 и 5,5, то Натуфос Е активен в широком диапазоне pH от 2 до 6. Поэтому Натуфос Е активен в передней части ЖКТ моногастричных, а именно в желудке свиней, а также зобе, железистом и мускульном желудке птицы.

Натуфос Е — одна из ведущих фитаз в мире, что подтверждается также независимыми оценками. Например, датская независимая некоммерческая организация SEGES оценивает Натуфос Е как самую эффективную фитазу в свиноводстве (SEGES, 28th edition of the official Danish nutrient standards, 2018).

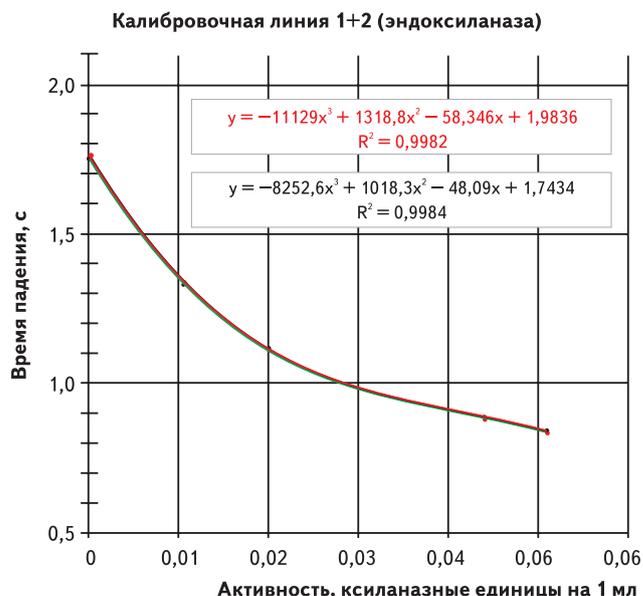
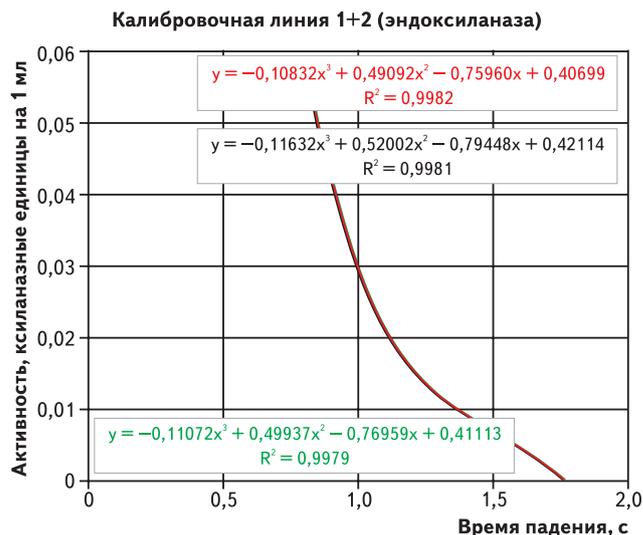
Указываете ли вы для потребителя состав ферментного продукта, а также количество наполнителя?

Данные о регистрации и составе наших ферментов находятся в открытом доступе на сайте Федеральной службы ветеринарного и фитосанитарного надзора РФ. Поэтому при необходимости каждый может найти интересующую его информацию на этом сайте, в том числе о составе ферментного продукта и количестве наполнителя.

Связан ли, если связан, наполнитель с активным веществом в ваших препаратах?

У сухих порошковых форм наших ферментов наполнитель не связан с активным веществом (энзимом). Ферменты в гранулированных формах, например Натуфос® Е 10000 G или Натуфос® Е 5000 Combi G, защищены с помощью сложной запатентованной рецептуры, которая не препятствует высвобождению энзимов из корма в организме животного. Наполнитель дополнительно защищает ферменты от воздействия высокой температуры или давления, но также не связан с энзимами.

В наставлениях на применение производители ферментов указывают активность, определяемую по методам, принятым у них или в стране производителя. Для российских же потребителей желательно иметь



Пример калибровочной линии для вискозиметрического определения ксиланазной активности



ЛАБОРАТОРИЯ В КАРМАНЕ! ИДЕНТИФИКАЦИЯ Natuphos® E — ИННОВАЦИЯ ОТ BASF!

Концерн BASF всегда относился с особым вниманием к надежности и качеству своей продукции и для того, чтобы клиенты и партнеры компании могли быть уверены в наличии гибридной фитазы Natuphos® E в премиксах и комбикормах, разработал и внедрил инновационный экспресс-тест высокой чувствительности, позволяющий идентифицировать Natuphos® E в премиксах и комбикормах на каждом этапе их производства.

Экспресс-тест обеспечивает: • быстрый результат (20–30 мин); • простоту проведения; • контроль качества.

Качественное обнаружение Natuphos® E базируется на сэндвич-иммуноанализе. Точнее, это иммунохроматографический тест, в котором с помощью тест-полоски можно легко и сразу идентифицировать гибридную фитазу. Анализируемый в навеске Natuphos® E зажимается между двумя антителами. Одно антитело связывает фитазу на тестовой линии, а второе, меченое золотом, устанавливает ее наличие в пробе. Контрольная линия определяет функциональность анализа, особенно в случае отсутствия Natuphos® E в пробах.

значения активности в соответствии с методами ее определения по ГОСТ Р. Непредоставление методик определения трактуется специалистами как «сокрытие информации от потребителя». Какова практика в ЕС? Собирается ли компания пойти навстречу российским потребителям?

Здесь нужно провести четкую черту между фитазами и ферментами, расщепляющими некрахмалистые полисахариды, то есть НПС-ферментами. Для фитазы (за одним исключением; но и здесь проблема уже решена за счет ввода фактора пересчета (2,68) из OTU в FTU единицы) существует единый метод определения активности, который выражается в фитазных единицах — FTU/FYT. Это так называемый ISO30024-метод. Данный метод разрабатывался компанией BASF и был принят официальными органами как стандартный метод для определения активности фитазы в чистых продуктах, премиксах и комбикормах на государственном уровне. ISO30024-метод является основой для независимого государственного контроля в Европейском союзе. На самом деле Российская Федерация не исключение и официальный метод ГОСТ Р ИСО 30024-2012 «Корма для животных. Определение активности фитазы» идентичен ISO 30024. Поэтому фитазную активность в любом продукте (Натупос и Натупос Е) или их содержащих премиксах и комбикормах можно без проблем определять и в России.

Для НПС-ферментов ситуация действительно запутанная. У каждого производителя существует собственный метод определения активности НПС-ферментов (ксиланаза, глюканаза, маннаназа и др.), что делает невозможным сравнение активностей энзимов различных производителей.

Касательно непредоставления методик могу лишь упомянуть, что наша компания их никогда не скрывала. Например, методика определения активности ксиланазы и глюканазы в продукте Натугрэйн TS опубликована совместно с другими регистрационными документами в ЕС на английском языке в открытом доступе в официальном журнале Европейского агентства по безопасности продуктов питания (https://www.wpsa-aeca.es/aeca_imgs_docs/wpsa1232037383a.pdf).

Можно ли определить содержание фермента в корме? Каким методом? Какую минимальную навеску

корма надо брать, чтобы при рекомендуемой дозе фермента получить достоверные данные?

Да, конечно. Определение активности ферментов в корме — это стандартная процедура. Для определения активности фитазы используется упомянутый ранее ГОСТ Р ИСО 30024, который идентичен ISO 30024 (2009), используемому в Европейском союзе и других странах мира. Для определения активности ксиланазы и глюканазы в продукте Натугрэйн TS применяется вискозиметрический метод, то есть определение активности НПС-ферментов в данном случае основывается на измерении вязкости. Данный подход базируется на способности ферментов снижать вязкость стандартного раствора заданного субстрата (арабиноксилан или глюкан) при заданных условиях за единицу времени (таблица). Для определения активности фермента в тестируемом растворе строится калибровочная линия (рисунок).

В обобщенном виде, зная время падения, например, специального шарика в тестируемом растворе, можно рассчитать активность фермента. Преимуществом данного метода является то, что он использует так называемый *in vivo* эффект, поскольку по аналогии снижение вязкости содержимого в ЖКТ при вводе НПС-ферментов при значительном содержании водорастворимых НПС в составе комбикорма приводит к улучшению переваримости питательных веществ и продуктивности животных и птицы.

На начальном этапе измерения фитазной активности в пробе корма взвешивают две навески по 50 г в конических колбах вместимостью 500 мл. Для определения активности ксиланазы и глюканазы в пробах корма также берется на каждый фермент две навески по 50 г. Соответственно, пробы корма, которые направляют в лабораторию на анализ, должны иметь больший объем, чем суммарный объем навесок для ферментов во время анализа. Мы рекомендуем направлять на анализ хотя бы 400 г заданного корма для определения активности ферментов в корме, содержащем Натугрэйн TS. Для определения фитазы масса пробы корма должна составлять не менее 200 г. При определении трех ферментов: фитазы, ксиланазы, бета-глюканазы в одном типе комбикорма величина навески увеличивается до минимальных 600 г (400+200 г). ■