

УДК 579.66/ 663.15

**ЭФФЕКТИВНОСТЬ МУЛЬТИЭНЗИМНОГО ПРЕПАРАТА НА ОСНОВЕ НОВОГО
МУТАНТНОГО ШТАММА *TRICHODERMA REESEI* ПРИ ОБРАБОТКЕ
ЗЛАКОВЫХ КУЛЬТУР С ВЫСОКИМ СОДЕРЖАНИЕМ НЕКРАХМАЛЬНЫХ
ПОЛИСАХАРИДОВ**

**Серeda А.С., канд. техн. наук, Костылева Е.В., канд. техн. наук, Великорецкая И.А.,
Цурикова Н.В., канд. техн. наук**

*Всероссийский научно-исследовательский институт пищевой биотехнологии – филиал
Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный
исследовательский центр питания, биотехнологии и безопасности пищи» (Москва)*

Айсина А.М.

*Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего
образования «Московский государственный университет пищевых производств»
(Москва)*

Михайличенко Е.А.

*Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего
образования «Московский политехнический университет» (Москва)*

Реферат. Проведено исследование эффективности комплексного ферментного препарата (ФП) на основе мутантного штамма *T. reesei*-Co-44 с увеличенной активностью ксиланазы и эндоглюканазы при гидролизе овсяной и ячменной муки. Установлено, что применение препарата в минимальной дозировке – 0,025 мг белка ФП/ г сырья позволяет увеличить выход восстанавливающих сахаров на 25% и в 3,7 раз при гидролизе ячменной и овсяной муки, соответственно. Эффективность препарата на основе штамма *T. reesei*-Co-44 по выходу восстанавливающих сахаров при гидролизе овсяной муки была на 50% выше, чем при использовании коммерческого ФП Целлюлюкс F за счет более высокого уровня активности ксиланазы.

Ключевые слова: ферментные препараты, эндоглюканаза, ксиланаза, овсяная мука, ячменная мука

Summary. The efficacy of a complex enzyme preparation (EP) based on the mutant strain *T. reesei*-Co-44 with increased xylanase and endo-endoglucanase activity was studied in the hydrolysis of oat and barley flour. It was found that the minimum dosage of the complex preparation – 0.025 mg of the EP protein / g of raw material, provides increase in the reducing sugars yield by 25% and 3.7 times during hydrolysis of barley and oatmeal, respectively. The effectiveness of the *T. reesei*-Co-44 preparation estimated by the reducing sugars yield in the hydrolysis of oatmeal was 50% higher compared to the commercial preparation Celloluxe F, due to the high level of xylanase activity.

Key words: enzyme preparations, endoglucanase, xylanase, oat flour, barley flour

Введение. Несмотря на высокие темпы развития рынка кормовых ферментов в России, ключевой проблемой остается высокая степень зависимости от импорта. Доля импортных ФП для кормопроизводства составляет более 80% [1]. Одним из необходимых условий для создания отечественных конкурентоспособных промышленных производств

ФП является наличие высокоактивных штаммов-продуцентов. Во ВНИИПБТ совместно с МГУ им. Ломоносова и ФИЦ «Биотехнология» проводятся исследования по созданию высокоактивных продуцентов комплексов ферментов с оптимизированным составом для применения в конкретных технологических процессах в различных отраслях АПК. С помощью мутагенеза гамма-излучением на кобальтовом источнике получен штамм *T. reesei*-Co-44 с увеличенной активностью карбогидраз эндодействия – эндоглюканазы и ксиланазы.

Перспективным направлением развития рынка кормовых ферментов является получение комплексных ферментных препаратов (КФП) для снижения содержания в растительном сырье некрахмальных полисахаридов (НКП) [1]. НКП, к которым относятся целлюлоза, гемицеллюлозы (главным образом, ксиланы) и β -глюканы, повышают вязкость перевариваемой массы, снижают усвояемость кормов, затрудняют доступ пищеварительных ферментов к питательным компонентам корма, снижают степень переваримости белка.

Применение ферментов, гидролизующих НКП, повышает питательную ценность кормов и рентабельность животноводческих хозяйств, снижает экологическую нагрузку за счет уменьшения количества отходов [2- 4]. Основу рационов сельскохозяйственных животных в России составляют злаковые культуры: пшеница, рожь, ячмень, овес, тритикале с различным содержанием целлюлозы, ксиланов и β -глюканов. Учитывая это, при использовании зерновых рационов смешанного типа наиболее востребованными становятся мультиэнзимные препараты нового поколения, содержащие не менее трех активностей: ксиланазу, β -глюканазу и целлюлазу [5-7].

Природные штаммы, как правило, синтезируют комплекс карбогидраз экзо- и эндодействия, которые за счет синергетического действия обеспечивают эффективную конверсию НКП в сбраживаемые сахара. Однако основной целью обработки растительного сырья при производстве кормов является разрушение полимеров клеточных стенок для высвобождения белка и других питательных компонентов зерна и снижения вязкости кормовых смесей, что обеспечивается, главным образом, действием эндоглюканаз и ксиланаз [2, 5]. В мутантном штамме *T. reesei*-Co-44 активность эндоглюканазы при культивировании в колбах была увеличена в 5 раз по сравнению с исходным продуцентом, а ксиланазы – в 8 раз. Высокий уровень активности мутантного штамма подтвердился при культивировании в лабораторных ферментерах, что позволило получить высокоактивные ФП сбалансированного состава для кормового применения.

Целью работы являлось исследование эффективности нового КФП на основе штамма *T. reesei*-Co-44 при гидролизе овса и ячменя, в сравнении с мультиэнзимным препаратом Целлолюкс-Ф нового поколения на основе штамма *T. viride*.

Объекты и методы исследований. В исследовании использовались следующие ФП: КФП на основе мутантного *T. reesei*-Co-44 (лабораторный образец) с активностью эндоглюканазы - 7500 ед/г, β -глюканазы - 6400 ед/г, ксиланазы – 25000 ед/г, содержанием белка – 510 мг/г; ЦеллоЛюкс-Ф («Сиббиофарм», РФ) с активностью эндоглюканазы – 3900 ед/г, β -глюканазы – 2350 ед/г, ксиланазы – 2600 ед/г, содержанием белка – 250 мг/г.

Активность ксиланазы, β -глюканазы и эндоглюканазы в препаратах определяли по начальным скоростям образования восстанавливающих сахаров (ВС) при гидролизе ксилана из древесины березы, β -глюкана ячменя и водорастворимой Na-соли карбоксиметилцеллюлозы (КМЦ), соответственно [8]. Содержание ВС определяли по методу Шомоди-Нельсона. Содержание белка в ФП определяли по методу Лоури.

В качестве субстратов для гидролиза использовали овсяную и ячменную муку. Гидролиз субстратов проводили в качалочных колбах объемом 750 мл при 40 °С при

220 об/мин. Концентрация субстрата составляла 50 мг/мл, ФП вносили в дозировке 0,025 мг белка ФП/г субстрата (сырья). Через 3 ч инкубирования полученные гидролизаты центрифугировали при 10750 g в течение 5 мин. В супернатантах определяли содержание ВС по методу Шомоди-Нельсона. Контрольные варианты инкубировали в аналогичных условиях (3 ч, 40 °С, 220 об/мин) без внесения ФП.

Обсуждение результатов. Основным фактором, определяющим рентабельность кормопроизводства, является стоимость компонентов корма. Колебание цен на зерновое сырье из-за глобального изменения климата заставляет специалистов по кормлению оптимизировать рационы и использовать более дешевые компоненты. С этой целью в комбикорма в максимально допустимом количестве часто включают ячмень и овес, характеризующиеся высоким содержанием НКП [9, 10].

При введении в рационы сырья с высоким содержанием арабиноксиланов и бета-глюканов ухудшается переваримость и усвояемость питательных веществ [9]. Использование кормового ферментного препарата (КФП) нового поколения со сбалансированным компонентным составом позволяет уменьшить затраты на корма без снижения продуктивности [5, 7, 9].

Эффективность КФП, полученного на основе нового мутантного штамма *T. reesei*-Со-44, исследовали при гидролизе муки из овса и ячменя, в сравнении с комплексным ФП Целлолюкс-Ф. В связи с комплексным составом, препараты дозировали по содержанию растворимого белка. В соответствии с рекомендациями производителей по дозированию ФП Целлолюкс-Ф – 100 г/т сырья, дозировка препаратов в эксперименте в пересчете на белок составляла 0,025 мг белка ФП/ г сырья.

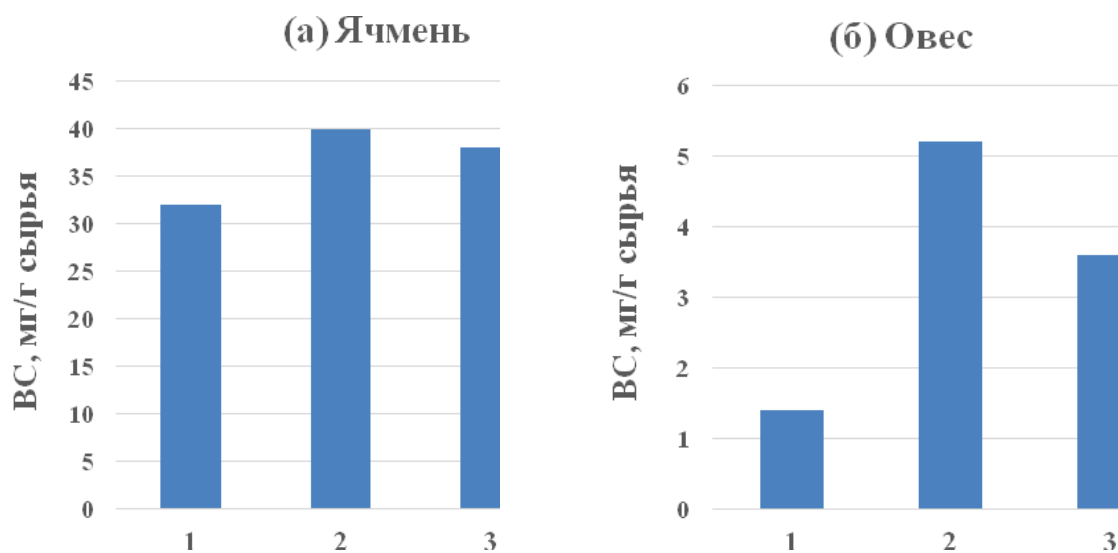


Рис. Выход восстанавливающих сахаров при гидролизе ячменной (а) и овсяной (б) муки ферментными препаратами: 1 – контроль (без ФП); 2 – КФП; 3 – Целлолюкс F

Из представленных на рис. данных следует, что внесение комплексных препаратов даже в минимальной для опытов *in vitro* дозировке (0,025 мг белка ФП/ г сырья) приводит к увеличению образования моносахаров. При гидролизе ячменной муки выход ВС увеличился на 18 – 25 % по сравнению с контрольным вариантом без внесения ФП. За счет по-

вышенной активности ксиланазы и эндоглюканызы КФП более эффективно гидролизировал НКП зерновых субстратов по сравнению с коммерческим препаратом Целлолюкс F. При обработке ячменной муки выход ВС был на 6 % выше, чем при использовании ФП Целлолюкс F.

Максимальный эффект был получен при гидролизе овсяной муки. Выход ВС при использовании КФП на основе нового мутантного штамма был в 1,5 раза выше по сравнению с коммерческим препаратом. Это можно объяснить повышенным содержанием в овсе арабиноксиланов – до 13,6 % и высоким уровнем активности ксиланазы в КФП на основе нового мутантного штамма.

Сбалансированный состав нового КФП позволяет использовать в составе кормов не только более 60 % зернового сырья, но и свежесобранное зерно, а также дешевые источники растительного белка – шроты и жмыхи подсолнечника, послеспиртовую барду.

Выводы. Полученные результаты подтверждают перспективность применения комплексного ферментного препарата, полученного на основе нового мутантного штамма *T. reesei*-Co-44 с увеличенной активностью ксиланазы и эндоглюканызы, для обработки зернового сырья с высоким содержанием некрахмальных полисахаридов в рационах сельскохозяйственных животных.

Литература

1. Толкачева, А.А. Ферменты промышленного назначения – обзор рынка ферментных препаратов и перспективы его развития / А.А. Толкачева, Д.А. Черенков, О.С. Корнеева, П.Г. Пономарев // Вестник ВГУИТ. – 2017. – Т. 79.- № 4. – С. 197–203.
2. Bedford, M.R. Enzymes in farm animal nutrition / M.R. Bedford, G.G. Partridge. – UK: CAB International, 2010. – 319 p.
3. Ravindran, V. Feed enzyme technology: Present status and future developments / V.Ravindran // Recent Patents on Food, Nutrition & Agriculture. – 2011. – № 3. – P. 102-109.
4. Сеницын, А.П. Кормовые ферментные препараты нового поколения / А.П. Сеницын, Д.А. Мерзлов, О.Г. Короткова // Перспективные ферментные препараты и биотехнологические процессы в технологиях продуктов питания и кормов: Сб. науч. тр., ВНИИПБТ. – Москва, 2016. – С. 35-41.
5. Сеницын, А.П. Ферментные новшества / А.П. Сеницын, О.А. Сеницына, О.Г. Короткова // Агробизнес. – 2016. - Том 38. – № 4. – С. 88-92.
6. Силин, М.А. Ферментные препараты Российского производителя / М.А.Силин, Л.Т. Захарова, Н.В.Ильинская, Л.В. Плаксюк // Птицеводство. – 2016. – № 11. – С. 7-10.
7. Нуфер, А. МЭЖ для повышения питательной ценности кормов / А. Нуфер // Комбикорма. – 2011. – № 4. – С. 57-58.
8. Sajith, S. An Overview on Fungal Cellulases with an Industrial Perspective / S. Sajith, P. Priji, S. Benjamin. // J Nutr Food Sci. – 2016. – V.6, №1. P. 461.
9. Амерах, А. Выше прибыль на зерновых рационах смешанного типа / А. Амерах // Ценовик. – 2014. - № 5. – С. 98-100.
10. Тищенко, П.И. Способы обработки зерна и кормов для поросят/П.И. Тищенко // Комбикорма. – 2013. – №10. – С. 41-44.