Протеаза

для моногастричных животных

Активность протеолитических ферментов в пищеварительном тракте свиней и птицы

Артур ИЛЬЯШЕНКО, кандидат биологических наук **Компания Bioproton Europe Oy**

Для эффективного использования растительного белка в рационы для животных включают протеазу. Согласно химической номенклатуре этот фермент представлен шестью группами, включающими 84 семейства. Действие кормовых добавок на основе протеазы различается в зависимости от типа пептидазы. Попробуем разобраться в свойствах и функциональных особенностях таких продуктов при их использовании в кормлении свиней и птицы, а также определим степень влияния протеаз на компоненты корма.

Актуальность ввода протеаз в рационы

Общеизвестно, что при оценке питательности кормов важнейшим показателем считается сырой протеин — самый дорогостоящий компонент кормосмеси. На многих предприятиях снижают долю сырого протеина в рационах с целью их удешевления, но при этом стараются сохранить продуктивность животных, в том числе птицы.

Зоотехникам известно, что в кормах присутствуют блокирующие активность пищеварительных ферментов (пепсин, трипсин, химотрипсин, а-амилаза) вещества белковой природы. Их выявляют в семенах бобовых (соя, фасоль и др.) и злаковых (пшеница, ячмень и др.) культур, в картофеле, яичном белке и других продуктах растительного и животного происхождения. В кормах содержатся и недоступные для переваривания белки, поскольку в организме моногастрич-

ных животных синтезируются не все протеолитические ферменты. Но, как показывают результаты экспериментов, при включении в рацион экзогенных энзимов этого типа эффективность переваривания кормовых белков существенно повышается.

Данные исследований свидетельствуют о том, что при добавлении протеазы использование сырого протеина и аминокислот значительно улучшается (Olukosi O. et al., 2007; Freitas D. et al., 2011). Некоторые ученые считают, что влияние протеазы на пищеварение не зависит от вида животных (птица, свиныи). Доктор биологических наук, профессор В.С. Крюков (2021) подчеркивает, что переваримость белка под действием эндогенных протеаз — основной фактор, определяющий степень использования включенной в состав корма протеазы.

Подтверждено на практике, что ввод протеазы в рацион способствует

его оптимизации. Например, большую долю соевого шрота можно заменить таким же количеством подсолнечного шрота или добавить в кормосмесь отходы спиртовой промышленности (Amer S.A. et al., 2021). Непереваренный протеин служит питательной средой для патогенных бактерий, но при скармливании кормов с добавлением протеазы здоровье кишечника улучшается (Wilkie D.C. et al., 2005; Malo M. et al., 2010). К тому же при использовании протеолитического фермента в кормлении животных, в том числе птицы, снижается экологическая нагрузка за счет уменьшения содержания азота в навозе и помёте и сокращения эмиссии этого вещества в окружающую среду (Егоров И.А. $u \partial p., 2023$).

Сегодня в кормопроизводстве протеазу применяют для того, чтобы сократить (на 4-6% в зависимости от используемого сырья) долю источников протеина и аминокислот в комбикормах. Следует учитывать, что этот фермент необходим молодым животным, так как их пищеварительная система полностью не сформирована и плохо справляется с перевариванием корма (Бизюк T., 2021). Данные исследований свидетельствуют о том, что включение протеазы в рационы для бройлеров позволяет повысить общее ко-



личество заменимых и незаменимых аминокислот в грудных и бедренных мышцах птицы ($Mолоканова \ O. B.$, III аиких E. B., 2023).

Особенности протеаз разного типа

Протеазы представлены обширной группой характеризующихся широкой специфичностью ферментов, расщепляющих белки по пептидным связям. В зависимости от состава и последовательности аминокислот в активных центрах выделяют следующие типы протеаз — сериновые, цистеиновые, треониновые, аспарагиновые, глутаминовые, а также металлопротеазы и аспарагиновые пептидные лиазы (*López-Otín C., Bond J.S.*, 2008). Их продуцентами могут выступать грибы, бактерии или растения.

Сегодня на рынке ферментов представлен широкий ассортимент продуктов на основе протеаз разных типов. В Российской Федерации разрешена продажа 73 продуктов, в состав которых входит протеаза. Абсолютное большинство препаратов относится к ферментным кормовым добавкам и только один — к адсорбентам. В инструкциях редко можно увидеть информацию о принадлежности протеазы к тому или иному типу. Иногда прописана рабочая характеристика ферментной добавки (кислая, щелочная или нейтральная), указывающая на то, в какой буферной среде фермент будет эффективнее взаимодействовать с субстратом.

Кислотность содержимого кишечника меняется по мере прохождения по нему химуса и не является постоянной величиной. На рисунках 1 и 2 представлена схема пищеварительной системы свиньи и курицы с указанием значения рН в каждом из отделов желудочно-кишечного тракта.

На рисунках 1 и 2 видно, что уровень рН имеет индивидуальные видовые различия. В пищеварительной системе свиней рН смещен в сторону щелочной среды, а в пищеварительной системе птицы — в сторону нейтральной. Можно сделать вывод о том, что в организме птицы кислая протеаза наиболее эффективно будет работать в желудке и в двенадцатиперстной кишке, а в других отделах кишечника активность фермента станет стремиться к нулю.

Такой эффект нежелателен, поскольку в перечисленных отделах желудочно-кишечного тракта на белок воздействуют собственные протеолитические ферменты — пепсин, трипсин, эрипсин и химотрипсин (в организме свиней — химозин). В желудке избыточное воздействие на субстрат содержащихся в корме ферментов может стать причиной снижения активности эндогенных протеолитических ферментов (Mahagna M. et al., 1995).

Практика показывает, что кислую протеазу целесообразно использовать для преодоления действия ингибиторов пищеварения. Если в сырье содержание трипсина, лектина и глицинина достаточно высокое, щелочная протеаза в отношении этих субстратов неактивна (Hessing G.C. et al., 1996). В остальных случаях наиболее подхо-

дящими для моногастричных животных будут добавки на основе нейтральной и щелочной протеазы.

Следует учитывать, что комплексные препараты (на рынке ферментов они представлены в широком ассортименте) надежнее, чем добавки, содержащие только один компонент. Это обусловлено тем, что при использовании комплексных препаратов (их основу составляют несколько энзимов животного, растительного или грибкового происхождения в чистом виде или вместе со вспомогательными веществами — желчными кислотами, аминокислотами, гемицеллюлазой, адсорбентами и др.) исключается риск ингибирования других ферментов (Лобанок А., 2011). Ученые провели ряд научно-хозяйственных опытов по использованию протеазы в кормлении моногастричных животных. Было

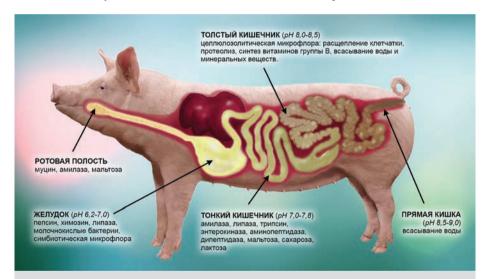


Рис. 1. Пищеварительная система свиньи

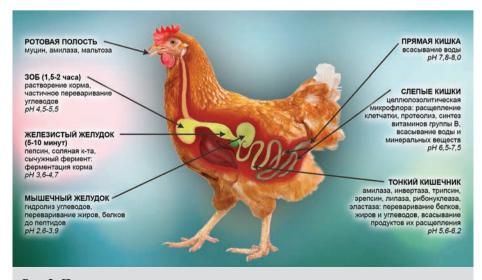


Рис. 2. Пищеварительная система курицы

установлено, что фермент не оказывает положительного влияния на зоотехнические показатели. Исследователи Lee S.A. et al. (2018) объяснили это негативным действием других добавок на основе фитазы и ксиланазы.

В инструкции по применению коммерческих ферментных препаратов нет подробной информации о типе протеаз, но, исходя из данных о штаммах продуцентов, можно сделать вывод о том, что абсолютное большинство этих продуктов содержит обладающую нейтральным и щелочным свойствами сериновую протеазу (субтилизин), которую продуцирует штамм Bacillus subtilis. Добавки на основе таких протеаз обеспечивают гидролиз белка не только в передних, но и в задних отделах кишечника, то есть там, где не работают ферменты желудочного сока.

Своеобразным ноу-хау в области производства ферментных препаратов стало использование растительных протеаз. Наиболее распространенный в производстве (5–8% от общего количества произведенных коммерческих ферментных продуктов) и хорошо изученный фермент — папачин. Его выделяют из латекса неспелых плодов и листьев *Carica papaya* — тропического фрукта со сладкой мякотью и съедобными семенами (*Tacias-Pascacio V.G. et al.*, 2021; *de Castro L. B.R. et al.*, 2022).

В кормлении животных папаин начали использовать относительно недавно. Главная особенность этой протеазы — способность сохранять активность в среде, рН которой варьирует от 3 до 11. Кроме того, папаин характеризуется широкой специфичностью к субстрату — эффективно гидролизует протеин, расщепляя пептидные связи положительно заряженных аминокислот, преимущественно остатков лизина, глицина, аргинина и фенилаланина (Кузнецова Е.А. и Черепнина Л.В., 2013; Rachmawati D. et al., 2018; Shouket H.A. et al., 2020; Ильяшенκο A.H., 2024).

Сегодня в Российской Федерации на рынке ферментов представлены три коммерческих продукта на основе папаина: два — для применения в кормлении продуктивных животных и один — для использования в производстве кормов для домашних питомцев (кошки, собаки).

Практические аспекты ввода протеаз в рационы

При включении протеаз в комбикорма с большой долей гороха, а также соевого, подсолнечного и рапсового шротов (жмыхов) экономическая и зоотехническая эффективность кормления поголовья существенно повышается.

В состав соевого шрота входят ингибиторы протеаз, которые не разрушаются даже при термообработке, из-за чего активность фермента заметно снижается (Clemente A. et al., 2008; Moreno F.J. and Clemente A., 2008, Chen J. et al., 2020; Miura E.M.Y. et al., 2005). Независимо друг от друга ученые провели исследования, по результатам которых оценили целесообразность включения протеазы в рационы с высоким содержанием соевого шрота.

В ходе эксперимента бройлеров разделили на две группы. Птица первой и второй групп получала комбикорма с соевым шротом (на его долю приходилось соответственно 26,6 и 28,8%). Различия в кормлении заключались в том, что в кормосмесь для бройлеров первой группы вводили протеазу, продуцентом которой были бактерии Aspergillus spp. (кератиназа, активная при рН от 3 до 9), а в рацион для сверстников второй группы - протеолитический фермент, синтезированный бактериями Bacillus spp. (нейтральная либо щелочная протеаза). В течение всего периода выращивания бройлеры первой группы по продуктивности превосходили аналогов второй группы. Таким образом было установлено, что ферментная добавка на основе протеазы, продуцированной бактериями Bacillus spp., не оказала существенного влияния на зоотехнические показатели (Odetallah N. H., 2003; Olukosi O.A., 2015).

Как и соя, горох содержит ингибиторы трипсина (40—160 мг/100 г в зависимости от сорта). Данные научно-хозяйственных опытов подтвердили, что на протяжении всего периода выращивания мясной птице можно скармливать комбикорма с 10% гороха при условии включения в них ксиланазы и протеазы, синтезированной микроорганизмами Penicillium verruculosum (кислая аспарагиновая протеаза). Применение этих ферментов в учетный период способствовало сниже-

нию затрат корма на 7,37% за счет повышения переваримости и использования питательных веществ в организме бройлеров (*Егоров И.А. и др.*, 2023).

Для удешевления рациона специалисты по кормлению нередко используют подсолнечный жмых вместо соевого. Однако, как показывает практика, свиньи и птица по-разному реагируют на такую замену: в организме кур повышается активность собственных пищеварительных ферментов, а в организме свиней активность собственных ферментов снижается почти в два раза. При этом переваримость сырого протеина не изменяется, что обусловлено наличием ингибитора трипсина в соевом шроте (Фисинин В. И. и др., 2019).

Были проведены эксперименты по скармливанию кормосмесей с вводом 4% рапсового шрота. В рацион для бройлеров опытной группы включали коммерческий ферментный продукт на основе протеазы, продуцированной бактериями *Bacillus licheniformis* (нейтральная протеаза). Использование этого препарата не повлияло на переваримость аминокислот в подвздошной кишке и на активность фермента в тощей кишке.

Выводы

Отличительная особенность кислых протеаз — их способность преодолевать воздействие ингибиторов пепсина. Следует учитывать, что кислые протеазы эффективно работают в узком диапазоне значений рН среды и могут отрицательно влиять на выработку собственных пищеварительных ферментов. Поэтому для специалистов свинокомплексов и птицефабрик наибольший интерес представляют добавки на основе нескольких протеаз либо коммерческие продукты на основе протеазы с подтвержденной активностью в кислой, нейтральной и щелочной среде желудочно-кишечного тракта.

Учитывая свойства протеаз разного типа и данные исследований по их применению в кормлении моногастричных животных, можно сделать вывод о том, что для улучшения использования протеина и аминокислот гороха, а также соевого, подсолнечного и рапсового шротов (жмыхов) в комбикорма для свиней и птицы целесообразно включать протеолитические ферментные добавки.