

**Министерство науки и высшего образования Российской Федерации  
федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение  
высшего образования  
«Волгоградский государственный аграрный университет»**

На правах рукописи

**Сони́чев Борис Евге́ньевич**

**ФЕРМЕНТАТИВНЫЙ ГИДРОЛИЗ НЕКРАХМАЛИСТЫХ  
ПОЛИСАХАРИДОВ  
И ОЦЕНКА МУЛЬТИФЕРМЕНТНЫХ ПРЕПАРАТОВ  
В КОРМЛЕНИИ ЦЫПЛЯТ-БРОЙЛЕРОВ**

4.2.4. Частная зоотехния, кормление, технологии приготовления кормов и  
производства продукции животноводства

**ДИССЕРТАЦИЯ**

на соискание ученой степени кандидата биологических наук

Научный руководитель:  
доктор биологических наук,  
профессор С.О. Шаповалов

**Волгоград – 2023**

## ОГЛАВЛЕНИЕ

|                                                                                                                                                                                            |           |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| ВВЕДЕНИЕ .....                                                                                                                                                                             | 4         |
| <b>1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ</b> .....                                                                                                                                                            | <b>12</b> |
| 1.1 Современные аспекты и тенденции применения кормовых ферментов, разрушающих некрахмалистые полисахариды (НКП-ферменты) в России и за рубежом в кормлении цыплят-бройлеров.....          | 12        |
| 1.2 Многообразие применяемых кормовых НКП-ферментов в России и за рубежом .....                                                                                                            | 15        |
| 1.3 Проблемы лабораторного анализа карбогидраз, принципы и проблемы .....                                                                                                                  | 19        |
| 1.4 Различные подходы и использование большого многообразия единиц для оценки активности ферментов. Проблематика этого положения в кормлении с.-х. животных и птицы .....                  | 25        |
| 1.5 Физико-химические свойства основных субстратов для кормовых ферментов – полисахаридов и их мономеров .....                                                                             | 31        |
| 1.6 Роль НКП в качестве антипитательных факторов при кормлении цыплят-бройлеров .....                                                                                                      | 38        |
| 1.7 Описание и свойства кормовых НКП-ферментов и их практическое применение в практике кормления .....                                                                                     | 41        |
| 1.8 Влияние условий ЖКТ у с.-х. птиц, состава и особенностей производства комбикорма на эффективность работы кормовых ферментов НКП-ферментов и обоснование установленных параметров ..... | 49        |
| <b>2 МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ</b> .....                                                                                                                                              | <b>56</b> |
| <b>3 РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ</b> .....                                                                                                                                         | <b>62</b> |
| 3.1 Сравнительная эффективность действия ферментных препаратов в кормовом сырье (in vitro) (научно-лабораторный опыт) .....                                                                | 62        |
| 3.2 Определение эффективности различных мультиферментных добавок при выращивании цыплят-бройлеров (первый научно-хозяйственный опыт).....                                                  | 92        |
| 3.2.1 Условия проведения научно-хозяйственного опыта.....                                                                                                                                  | 92        |
| 3.2.2 Зоотехнические показатели выращивания цыплят-бройлеров .....                                                                                                                         | 99        |
| 3.2.3 Гематологические показатели цыплят-бройлеров .....                                                                                                                                   | 104       |
| 3.2.4 Расчет экономической эффективности выращивания цыплят-бройлеров .....                                                                                                                | 108       |
| 3.3 Эффективность использования мультиферментных добавок в кормлении цыплят-бройлеров (второй научно-хозяйственный опыт) .....                                                             | 110       |
| 3.3.1 Условия кормления подопытных цыплят-бройлеров .....                                                                                                                                  | 110       |

|        |                                                                                                                                                       |            |
|--------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------|
| 3.3.2  | Переваримость питательных веществ комбикорма, использование азота, кальция и фосфора и доступность аминокислот подопытными цыплятами-бройлерами ..... | 113        |
| 3.3.3  | Динамика живой массы подопытных цыплят-бройлеров .....                                                                                                | 117        |
| 3.3.4  | Потребление разработанных комбикормов подопытными цыплятами-бройлерами                                                                                | 118        |
| 3.3.5  | Морфологические и биохимические показатели крови цыплят-бройлеров.....                                                                                | 119        |
| 3.3.6  | Мясная продуктивность подопытных цыплят-бройлеров.....                                                                                                | 121        |
| 3.3.7  | Химический состав, энергетическая ценность и аминокислотный состав мышц цыплят-бройлеров .....                                                        | 123        |
| 3.3.8  | Органолептическая оценка мяса цыплят-бройлеров опытных групп .....                                                                                    | 126        |
| 3.3.9  | Исследования микробиоты кишечника цыплят-бройлеров .....                                                                                              | 127        |
| 3.3.10 | Экономическая эффективность использования ферментных препаратов в комбикормах цыплят-бройлеров.....                                                   | 131        |
| 3.4    | <b>ПРОИЗВОДСТВЕННАЯ ПРОВЕРКА.....</b>                                                                                                                 | <b>133</b> |
|        | <b>ЗАКЛЮЧЕНИЕ .....</b>                                                                                                                               | <b>135</b> |
|        | <b>ПРЕДЛОЖЕНИЕ ПРОИЗВОДСТВУ .....</b>                                                                                                                 | <b>137</b> |
|        | <b>ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕГО ИССЛЕДОВАНИЯ.....</b>                                                                                                      | <b>137</b> |
|        | <b>СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ .....</b>                                                                                                         | <b>138</b> |
|        | <b>СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ.....</b>                                                                                                                         | <b>161</b> |

## ВВЕДЕНИЕ

**Актуальность темы.** Численность населения Земли в 2022 году составила 8 млрд человек, а к 2050 году она достигнет 9,7 млрд. В соответствие с этим потребность в мясе вырастет более чем на 70 % и потребует производства 470 млн. тонн животных белков к 2050 году.

В условиях увеличения потребления растущим населением Земли значительных ресурсов для питания, сельское хозяйство - это основной производитель продуктов питания для людей [84, 44].

К таким продуктам относятся зерно, молоко, а также мясо, которое содержит полноценные белки, жиры, углеводы, витамины, минеральные вещества и другие соединения, полностью удовлетворяющие потребности человеческого организма.

Проблема повышения эффективности использования питательных веществ кормов является существенной для всех отраслей промышленного животноводства, так как затраты на корма составляют до 70% от себестоимости продукции [70].

Данный вопрос еще более актуален, когда используются кормовое сырье низкого качества, и/или нетрадиционное сырье, а при этом требования к качеству кормления высокопродуктивных кроссов птицы повышаются [33].

Повышение эффективности использования зерновых кормов и продуктов их переработки при сохранении продуктивных качеств в рационах высокопродуктивных кроссов птицы сдерживается присутствием в них некрахмалистых полисахаридов, которые практически сами не перевариваются из-за отсутствия специфических пищеварительных ферментов у птицы.

Высокий уровень непереваримых некрахмалистых полисахаридов зернового и другого кормового сырья является источником существенного кормового стресса у птицы и причиной ряда метаболических расстройств [181].

Применение различных кормовых ферментов снижает риск воздействия этих неблагоприятных факторов и уже широко применяется в промышленном птицеводстве [111].

Проблема в большей степени снимается введением специальных кормовых ферментов – карбогидраз (ксилаказы, глюканы, маннаны, амилазы, пектиназы), имеющих соответствующую активность. Однако, остается открытым вопрос об эффективности тех или иных мультиферментных композиций для соответствующего кормового сырья и структуры рационов. При этом у конечных потребителей кормовых ферментов не хватает эффективного практического критерия для выбора препаратов различных производителей, из-за выражения активности ферментов по различным оценочным системам у каждого их производителя.

В связи с вышесказанным, наши исследования, являются актуальными, так как направлены на оценку эффективности ферментных препаратов одного назначения и комплексное их изучение в кормлении цыплят-бройлеров.

**Степень разработанности темы.** Тема диссертации является современной и актуальной и посвящена изучению влияния ферментных препаратов в составе комбикорма на мясную продуктивность цыплят-бройлеров. Социальный и экономический интерес имеют результаты, полученные в ходе опыта. Отечественные ученые на протяжении многих десятилетий (Т. Н. Ленкова, Т. А. Егорова, 2022 г; Егоров И.А., 2020 г; О. Г. Короткова и др., 2018 г; А.А. Комаров и др., 2012; Фисинин В.И., 2009 г; С. Г. Гришутин и др., 2006 г;), проводят исследования по изучению влияния ферментных препаратов на продуктивные качества сельскохозяйственной птицы.

**Цель и задачи исследования.** Цель исследований - повышение мясной продуктивности птицы, за счет улучшения ферментативного гидролиза некрахмалистых полисахаридов кормового сырья в кормлении цыплят-бройлеров.

В этой связи в задачи исследований входит:

1. Адаптировать методику определения восстанавливающих сахаров с применением ДНС-реактива для определения эффективности кормовых ферментов для различного кормового сырья.
2. Определить «in vitro» уровень высвобождения восстанавливающих сахаров под действием разных ферментных препаратов из основного кормового сырья, содержащего некрахмалистые полисахариды: пшеница, ячмень, кукуруза, подсолнечный жмых и их смесь и сделать выводы об эффективности исследуемых ферментных препаратов разных производителей.
3. Выявить влияние различных мультиферментных препаратов на переваримость и усвояемость питательных веществ комбикорма у цыплят-бройлеров.
4. Изучить влияние мультиферментных препаратов на живую массу цыплят-бройлеров, мясную продуктивность и качество полученной продукции.
5. Определить влияние ферментных препаратов на морфологические и биохимические показатели крови подопытных цыплят-бройлеров.
6. Изучить микрофлору кишечника подопытных цыплят-бройлеров при включении в рацион мультиферментных препаратов.
7. Установить экономический эффект от применения ферментных препаратов в комбикормах для цыплят-бройлеров.

**Научная новизна.** Впервые был проведен комплекс исследований направленный на сравнение эффективности ферментных препаратов при выращивании цыплят-бройлеров и сопоставление этих результатов с оценкой уровня высвобождения сахаров по разработанной практической и доступной методике, которая позволит понимать насколько тот или иной ферментный комплекс будет эффективен для конкретного кормового сырья и структуры рациона, а также для подтверждения уровня матричных значений питательности фермента. Обоснован положительный эффект от

использования мультиферментных препаратов на зоотехнические, физиологические и экономические показатели выращивания цыплят-бройлеров. Разработаны рецепты комбикормов с мультиферментными препаратами для цыплят-бройлеров.

**Теоретическая и практическая значимость работы.** Теоретическая значимость работы определяется знанием метаболических процессов происходящих в организме сельскохозяйственной птицы, а именно цыплят-бройлеров с дополнительным введением мультиферментных препаратов в состав комбикормов. Известно, что зерновые корма для птицы являются основными источниками углеводов, уровень ввода в комбикорма варьирует в пределах от 65 до 80 %. В различных количественных соотношениях углеводы зерновых содержат сахара, декстрины, крахмал, целлюлозу, гемицеллюлозу и лигнин. В пищеварительном тракте сельскохозяйственной птицы отсутствуют ферменты, расщепляющие некрахмалистые полисахариды (целлюлоза, гемицеллюлоза, лигнин) при немногочисленной микрофлоре желудочно-кишечного тракта, синтезирующей эти энзимы. В связи с этим объективными предпосылками является использование мультиферментных препаратов в кормлении птицы.

По результатам исследования апробирована практическая методика определения эффективности кормовых ферментов, которая может выполняться любой зоотехнической или производственной лабораторией на комбикормовом заводе и/или птицефабрике. Путем применения разработанной методики проведена сравнительная оценка эффективности указанных ферментных препаратов по уровню высвобождения свободных сахаров при обработке ими пшеницы, ячменя, кукурузы, подсолнечного жмыха и их смеси. Проведенные исследования наглядно показали, как проявляют себя различные кормовые ферменты с разным кормовым сырьем в среде с рН 4,01 и 6,86, а также при смене этих рН (4,01 – 6,86 и 6,86 – 4,01) по уровню высвобождения сахаров, которые в конечном итоге являются дополнительным источником доступной энергии рациона.

Применение мультиферментных препаратов Натугрейн TS, Ровабио Эксель, Ронозим GT, Акстра ХВ, Акстра ХАР, Хостазим Комби, Вилзим, ЭнзимКомплекс в рационах цыплят-бройлеров позволило повысить живую массу цыплят-бройлеров на 4,76-13,87 % и повысить уровень рентабельности на 7,56- 18,6 %. Ввод мультиферментных препаратов Ровабио Эксель, Акстра ХАР, Вилзим в состав комбикормов для цыплят-бройлеров способствовал повышению переваримости и использованию питательных веществ, улучшению состава микрофлоры кишечника, увеличению живой массы на 6,95-8,68 %, убойного выхода туши на 0,06-0,19 %. При проведении научных исследований был выявлен положительный экономический эффект за счет применения мультиферментных препаратов в кормлении цыплят-бройлеров, так уровень рентабельности находился в пределах от 19,91 до 21,90 %.

**Методология и методы исследования.** Объект научных исследований - ферментативный гидролиз некрахмалистых полисахаридов и оценка мультиферментных препаратов при кормлении цыплят бройлеров. Методологией исследований был комплексный подход к актуальной проблеме, включающий применение аналитических данных научной литературы авторов Егорова И.А. Манукяна В.А. (2021 г), В.И. Фисинина, Т. Н. Ленковой, Т. М. Околеловой (2009 г), Бурякова Н.П. (2022 г) классических и современных методов исследований, а также обобщения и сравнительного анализа. В период проведения исследований применялись физиологические, зоотехнические, морфологические, биохимические, экономические методы исследований, при использовании современного оборудования предприятий Волгоградской области (лаборатория «Анализ кормов и продукции животноводства» ФГБОУ ВО Волгоградский ГАУ) и Московской области (НИЦ «Черкизово» центр испытания качества кормов и продукции животного происхождения).

**НА ЗАЩИТУ ВЫНОСЯТСЯ СЛЕДУЮЩИЕ ПОЛОЖЕНИЯ:**

1. Методика определения уровня редуцирующих сахаров с применением ДНС-реактива эффективна для определения кормовых ферментов в кормовом сырье.
2. Определен уровень высвобождения восстанавливающих сахаров под действием разных ферментных препаратов из основного кормового сырья, содержащего некрахмалистые полисахариды.
3. Ввод мультиферментных препаратов в рацион цыплят-бройлеров повышает переваримость питательных веществ и использование азота, кальция и фосфора;
4. Применение мультиферментных препаратов увеличивает живую массу и мясную продуктивность цыплят, а также оказывает положительное влияние на качество продукции;
5. Гематологические показатели цыплят-бройлеров при вводе в комбикорм мультиферментных препаратов находятся в пределах физиологически допустимой нормы;
6. Ввод мультиферментных препаратов в рацион цыплят-бройлеров улучшает микрофлору кишечника цыплят-бройлеров;
7. Использование мультиферментных препаратов при производстве мяса птицы повышает экономическую эффективность.

**Степень достоверности результатов исследований.** Достоверность полученных результатов в ходе проведения научных исследований подтверждена правильно разработанной методикой научных исследований, следованию общепринятых методик исследования. Результаты исследований представлены в большом объеме и опираются на большой фактический материал. Цифровой материал в ходе исследований был биометрически обработан на персональном компьютере с использованием программ пакета Microsoft Office – Microsoft Excel 2010 при определении достоверной разницы по соответствующей таблице (критерий Стьюдента).

Основные положения диссертационной работы рассмотрены на заседании кафедры «Кормление и разведение сельскохозяйственных животных» ФГБОУ ВО Волгоградский ГАУ.

**Апробация работы.** Основные положения и результаты исследований диссертационной работы доложены, обсуждены и одобрены на VI Международной научно-практической конференции «Инновационные технологии и технические средства для АПК» (Воронеж, 11-12 ноября 2019 года), Национальной конференции с международным участием, посвященной 85-летию доктора сельскохозяйственных наук, профессора, Академика Петровской академии наук и искусств, почетного профессора Донского ГАУ, кавалера ордена Дружбы Коханова Александра Петровича «Развитие животноводства – основа продовольственной безопасности» (Волгоград, 12-13 октября 2022 г.), VI Международной научно- теоретической конференции «Сейфуллинские чтения-2023» (Астана, 17 марта 2023 года), Международной научно-производственной конференции "Вызовы и инновационные решения в аграрной науке" (Белгород, 12 апреля 2023 года), Международной научно-практической конференции «Современные способы повышения продуктивных качеств сельскохозяйственных животных» (Саратов, 22-23 мая 2023 года).

**Реализация результатов исследований.** Полученные результаты внедрены на ГК «Здоровая ферма и используются в учебном процессе на факультете биотехнологий и ветеринарной медицины в ФГБОУ ВО Волгоградский государственный аграрный университет при подготовке специалистов, бакалавров, магистров и аспирантов.

**Публикации результатов исследований.** На основании полученных данных диссертационной работы опубликовано 5 работ, из которых 3 – в изданиях, включенных в Перечень ведущих рецензируемых научных журналов, утвержденных ВАК Министерства науки и высшего образования России и рекомендованных для публикации основных научных результатов диссертации на соискание ученой степени.

**Объем и структура диссертации.** Диссертационная работа изложена на 161 страницах печатного текста и включает в себя необходимые разделы (введение, обзор литературы, материал и методы исследований, результаты собственных исследований и их обсуждение, заключение, предложение производству, перспективы дальнейшего исследования и список использованной литературы, список сокращений). Список литературы состоит из 199 источников, в том числе 108 из них иностранных. Работа иллюстрирована 49 таблицами и 37 рисунками.

# 1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

## 1.1 Современные аспекты и тенденции применения кормовых ферментов, разрушающих некрахмалистые полисахариды (НКП-ферменты) в России и за рубежом в кормлении цыплят-бройлеров

Применение кормовых ферментов, разрушающих некрахмалистые полисахариды, а также крахмал, играет важную роль в эффективном производстве продукции птицеводства и свиноводства. Разрушая основные антипитательные факторы кормов – некрахмалистые полисахариды и, частично, амилозу – ферменты позволяют животным и птице получить дополнительные источники питательных веществ и энергии и, таким образом, улучшить конверсию корма и снизить себестоимость кормления. Кроме того, ферменты дают возможность более гибко подходить к вопросам составления и балансировки кормов, используя больше нетрадиционного и менее дорогого сырья [108, 121].

Применение кормовых НПС-ферментов берет свое начало в 1980-х годах, когда начало развиваться промышленное животноводство во всем мире. Согласно исследованию аналитиков компании AB Vista, мировой рынок целлюлозолитических ферментов и ферментов протеазы в денежном выражении оценивается величиной около 550 млн USD, а рынок фитазы — 450 млн USD. Таким образом, весь мировой рынок кормовых ферментов превышает миллиард долларов. Этот рынок имеет тенденцию к быстрому росту; так, по некоторым оценкам, в последние 15 лет он рос в среднем на 13% в год. Согласно прогнозам, в ближайшие 10-15 лет рост будет продолжаться. Основными потребителями ферментов являются страны Западной Европы, Юго-Восточной Азии и Северной Америки; доля России на этом рынке пока чрезвычайно мала [42].

Основными потребителями кормовых ферментов в России являются птицеводство и свиноводство. Потенциал российского рынка составляет 16,4 тыс. тонн (11,8 тыс. тонн — птицеводство; 4,6 тыс. тонн — свиноводство).

Одной из ключевых проблем отрасли является очень высокая импортозависимость. Эта проблема — общая для рынков большинства биологически активных веществ: начавшееся в 1970-е годы развитие советской биотехнологической промышленности было прервано в годы рыночных реформ. Определенные результаты были достигнуты при реализации государственной программы «Био-2020», в рамках которой были построены заводы по производству ферментов. Один из недавних успехов в этом направлении — открытие в мае 2014 года нового завода по производству ферментов (преимущественно кормовых) в Тамбовской области: его мощность составляет 1000 тонн в год.

Поскольку кормовые НКП-ферменты используются для повышения эффективности кормления и получения мяса и яиц, то уровень спроса на ферменты рождается уровнем спроса на мясо и яйца, потребление которых растет с каждым годом. В настоящее время наибольшее применение в птицеводстве находят карбогидразы для пшеницы и ячменя, в стадии роста популярности находятся ферменты для кукурузы в птицеводстве и для пшеницы и ячменя в свиноводстве, в стадии начала применения находятся ферменты в производстве аквакультур и в стадии научных исследований и адаптации применения находятся кормовые карбогидразы для жвачных животных [108].

Кормовые ферменты удобны при большинстве интенсивных технологий приготовления корма. Карбогидразы вводят в премиксы и комбикорма на заводах или непосредственно в кормоцехах птицефабрик и свинокомплексов методом ступенчатого смешивания с наполнителем или частью мелкоизмельченного корма, а на продвинутых комбикормовых заводах также путем нанесения жидких препаратов на готовые гранулы специальными дозаторами-распылителями, что позволяет увеличить температуру при грануляции без ущерба для ферментов (термостабильность ферментов — также главное их качество, которое имеет ограниченные пределы). Специалисты утверждают, что гораздо эффективнее вводить ферменты в

готовый комбикорм поскольку незащищенные ферменты в премиксах теряют до 18% своей активности в процессе его хранения уже в течение двух недель. Стабильность в премиксах и готовых комбикормах также является одной из важных характеристик ферментов. У разных ферментов различных производителей она различна. Существуют различные формы кормовых ферментов, который позволяют использовать их при любой форме приготовления и обработки корма. Порошковые незащищенные формы ферментов обычно используются при приготовлении негранулированных кормов или неподвергающихся термической обработке (например, паром). Гранулированными могут быть и незащищенные формы ферментов — микрогранулы (специальная форма выпуска для придания лучшей сыпучести, смешиваемости и антипылевого эффекта добавки). Защищенные ферменты — это гранулированные формы. Они используются в комбикормах подвергающихся термической обработке (например, при грануляции). Жидкие формы кормовых ферментов рекомендуют применять при использовании особенно высоких температур грануляции или экструзии. При этом жидкие формы напыляются на гранулы корма после прохождения им термической обработки [69].

Кроме повышения эффективности кормления, карбогидразы уменьшают выход помета и навоза у птицы и свиней, что способствует меньшим затратам на его переработку и утилизацию [108].

Отдельные препараты также снижают влажность помета у кур, что особенно важно для получения качественных пищевых яиц [69].

В ряде работ отмечено, что главный смысл применения кормовых ферментов в конечном итоге — это снижение себестоимости кормления в общем и всей продукции в частности. Поскольку ферменты позволяют сделать больше доступной энергии корма, а также частично больше доступного протеина и аминокислот, производители кормов могут экономить на стоимости рецепта, пересчитывая рецепты с уменьшенным уровнем указанных показателей питательности. Уровень применения ферментов

напрямую зависит от стоимости сырья, которое является основным поставщиком энергии в кормах, например, зерновое сырье, главным образом кукуруза и пшеница, а также растительные масла и животные жиры. Как ни парадоксально звучит для многих специалистов, которые экономят на снижении ввода кормовых ферментов при высокой стоимости зернового сырья и масла, надо поступать с точностью до наоборот, увеличивая ввод ферментов в такой ситуации, что дает наибольший эффект по возврату вложенных средств на ферменты. Рост потребления кукурузы, пшеницы, ячменя, рапса и соевого шрота в производстве биодизеля, повысили мировые цены на указанное сырье, что придает больший смысл использования продуктов переработки зерна, масла, крахмального и прочих пищевых производств при составлении кормов. В европейских странах уровень зерновых в структуре рационов составляет 30-40%, в то время как в России эта цифра составляет 60-70%. Это дает колоссальный потенциал увеличения использования продуктов переработки и соответственно, кормовых ферментов [108].

## **1.2 Многообразие применяемых кормовых НКП-ферментов в России и за рубежом**

Ряд источников показывает, что мировой рынок кормовых ферментов представлен четырьмя доминирующими компаниями: Даниско Энималь Нутришн (подразделение IFF Health&Biosciences), Новозаймс (подразделение DSM), БАСФ и Адиссео, которые вместе занимают около 70% на рынке. Кроме этих крупных производителей, есть ряд других игроков: АБ Виста, Оллтек, Кемин и значительное количество китайских компаний.

Даниско (Великобритания), формально компания тогда называлась Финнфидс (Финляндия) – пионер производства кормовых ферментов, которая начала разработку и производство в 1980-х годах. Сейчас их основные торговые марки – Ахтра ХВ, ХАР, которые являются мультиэнзимными композициями карбогидраз.

Новозаймс (DSM) является производителем кормовых ферментов с 2001 года. DSM является эксклюзивной компанией, которая занимается маркетингом и продажами ферментов Новозаймса, который занимается только их разработкой и производством. В их портфеле присутствуют торговые марки Ронозим и Роксазим, которые также являются мультиэнзимными композициями карбогидраз [159].

БАСФ (Германия), крупнейший в мире химический концерн, является производителем мультэнзимной композиции Натугрейн TS.

Адиссео (Франция) – крупная производственная компания, которая принадлежит китайским инвесторам, поставляет два продукта – Ровабио Эксель (карбогидразы) и Ровабио Макс (карбогидразы и фитаза) [108].

В России присутствуют на рынке все вышеуказанные компании, которые имеют значительную долю. Кроме того, поставляют кормовые ферменты иностранные компании: Alltech, Biochem, AD Biovet (Хювешарма), Kemin Europa, Perstorp, Qingdao Vland Biotech Group Co., SunHY, а также российские компании-производители: НПЦ «Агросистема», «Биотроф», ПО «Сиббиофарм», АгроФермент [69].

Обзор ферментов – карбогидраз, используемых на различных НКП субстратах и для разных видов животных и птицы представлен в таблице 1.

Таблица 1 - Ферменты–карбогидразы, используемые на различных НКП субстратах и для разных видов животных и птицы

| <b>Ферменты, гидролизующие некрахмалистые полисахариды, высвобождающие энергию</b> |                                                                                                                                |                                                                  |                            |
|------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------|----------------------------|
| Эндо-β-1,4-ксилаза                                                                 | Расщепляет растворимые и нерастворимые арабиноксиланы в клетчатке, высвобождает инкапсулированные питательные вещества         | Все виды сырья, зерно нового урожая                              | Птица<br>Свиньи            |
| Эндо-β-1,4-глюканаза (целлюлаза)                                                   | Расщепляет антипитательные β-глюканы в клетчатке зерновых и другого сырья; высвобождает инкапсулированные питательные вещества | Ячмень<br>Пшеница<br>Рожь<br>Тритикале<br>Подсолнечный шрот/жмых | Птица<br>Свиньи<br>Жвачные |

|                                                             |                                                                                                                                             |                                                                                                                |                                        |
|-------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------|
| Эндо-β-1,3(4)-<br>глюка-<br>наза<br>(истинная<br>глюканаза) | Расщепляет антипитательные β-<br>глюканы в клетчатке зерновых и<br>другого сырья; высвобождает<br>инкапсулированные питательные<br>вещества | Ячмень<br>Пшеница<br>Рожь<br>Тритикале<br>особенно нового<br>урожая                                            | Птица<br>Свиньи<br>Жвачные             |
| Эндо- 1,4-β-<br>маннаназа                                   | Разрушает маннаны и<br>маннозосодержащие<br>полисахариды                                                                                    | Соя, рапс, ячмень,<br>пшеница, рожь и<br>растительные<br>продукты переработки.<br>Жмых и шрот<br>подсолнечника | Птицы<br>Свиньи<br>Молодняк<br>жвачных |
| Пектиназа                                                   | Разрушает растворимые и<br>нерастворимые пектины                                                                                            | Соя, рапс, ячмень,<br>пшеница, рожь и<br>растительные<br>продукты переработки.<br>Жмых и шрот<br>подсолнечника | Птицы<br>Свиньи                        |
| Альфа-<br>галактозидаза                                     | Разрушает галактозиды,<br>зактозосодержащие полисахариды                                                                                    | Продукты переработки<br>сои, подсолнечника,<br>рапса.                                                          | Птицы<br>Свиньи                        |
| <b>Ферменты, расщепляющие крахмал</b>                       |                                                                                                                                             |                                                                                                                |                                        |
| α-амилаза                                                   | Обеспечивает расщепление<br>крахмала (амилозу), служит<br>дополнительным источником<br>энергии в составе комплексных<br>препаратов          | Кукуруза<br>Пшеница,<br>Ячмень<br>Зерно нового урожая                                                          | Молодняк<br>Свиньи<br>Птица<br>Жвачные |

В таблице 2 приведены основные виды ферментных препаратов, применяемых в России.

Таблица 2 - Основные виды ферментных препаратов, применяемых в России

| Препарат                       | Характеристика                                                                                                                                                                                                 |
|--------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Акстра ХВ 201<br>ТРТ и 202 ТРТ | Мультиферментный препарат, содержащий ксиланазу и бета-глюканазу. Термостабильный до 90°C. Даниско.                                                                                                            |
| АгроКсил                       | Мультиферментный комплекс, стандартизированный по ксиланазе, Агрофермент, РФ                                                                                                                                   |
| АгроЦел                        | Мультиферментный комплекс, стандартизированный по целлюлазе, Агрофермент, РФ                                                                                                                                   |
| Даниско<br>Ксиланаза           | Термостабильная ксиланаза. Препарат сохраняет свои свойства и обеспечивает оптимальный результат при температуре грануляции корма до 90°C. Даниско.                                                            |
| Кемзайм                        | Мультиферментный комплекс, содержащий ксиланазу, β-глюканазу, целлюлазный комплекс. Способствует расщеплению некрахмалистых полисахаридов, высвобождению и усвоению дополнительных питательных веществ. Кемин. |
| КИНГЗИМ                        | Мультиэнзимный препарат гидролитического действия, предназначенный для улучшения усвоения зерновых и белковых компонентов рациона животных. Производство Китай.                                                |

|                       |                                                                                                                                                                                                                                                                                          |
|-----------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| МЭК СХ                | Мультиэнзимная композиция — биологический катализатор, обеспечивающий разрушение оболочек растительных клеток и межклеточных структур, за счет чего повышается доступность питательных веществ и энергии зерновых кормов. НПО «Восток», НПО «Сиббиофарм».                                |
| Натугрэйн TS          | Комплексный универсальный ферментный препарат, содержит стандартизированные активности $\beta$ -глюканазы и ксиланазы. БАСФ.                                                                                                                                                             |
| Нутрикем              | Комплекс ферментов и эмульгаторов (лизолецитины), предназначен для повышения переваримости питательных веществ в рационах на основе пшеницы, ячменя, жмыхов и шрота. Кемин.                                                                                                              |
| Протосубтилин (А-120) | Специализированный ферментный препарат с высокой активностью протеазы широкого спектра действия. Позволяет повысить переваримость протеина, содержащегося в компонентах корма как растительного, так и животного происхождения. НПО «Восток»                                             |
| Ровабио Ехел АР       | Концентрированный энзим, основными компонентами которого являются ксиланаза и глюканаза. Препарат гидролизует полисахариды пшеницы и ячменя. Адиссео.                                                                                                                                    |
| Ронозим Мультигрейн   | Содержит целлюлазу, $\beta$ -глюканазу и ксиланазу. Способствует расщеплению сложных полисахаридов злаков, а также жмыхов и шрота в кишечнике птицы и свиней. Новозаймс (DSM).                                                                                                           |
| Ронозим NP            | Применяется для расщепления фитинового комплекса и лучшего усвоения кальция и фосфора, аминокислот, микроэлементов птицами и свиньями из кормов растительного происхождения и уменьшения выделения фосфора с пометом до 30%. Новозаймс (DSM).                                            |
| Санзайм               | Содержит ксиланазу, $\beta$ -глюканазу, маннаназу, целлюлазу. Применяется для птиц и свиней для улучшения усвоения корма при использовании в рационах зерновых, бобовых, масличных культур, жмыхов и шрота. Китай.                                                                       |
| ТЕХНОЗИМ РХР          | Мульэнзимная композиция, содержащая ксиланазу, 1,3(4)-глюканазу, целлюлазу, амилазу, субтилизин и фитазу. Расщепляет непитательные вещества кормов, что повышает биодоступность протеинов и крахмалов и увеличивает обменную энергию рациона, а также доступный фосфор.                  |
| ТЕХНОЗИМ РМД          | Мульэнзимная композиция, содержащая ксиланазу, 1,3(4)-глюканазу, целлюлазу и фитазу. Расщепляет непитательные вещества кормов, что повышает биодоступность некрахмалистых полисахаридов и крахмалов и увеличивает обменную энергию рациона, а также доступный фосфор.                    |
| ХОСТАЗИМ Комби        | Кормовая добавка содержит ферменты эндо-1,4- $\beta$ -ксиланазу, глюканазу, целлюлазу.                                                                                                                                                                                                   |
| ЦеллоЛюкс-F           | Комплексный ферментный препарат, сбалансированный по ксиланазной, $\beta$ -глюканазной и целлюлазной активностям. Используется для повышения усвояемости кормов с высоким содержанием некрахмалистых полисахаридов (пшеница, рожь, ячмень, овёс, подсолнечный шрот и жмых, отруби и др.) |
| Эндофид               | Концентрированный мультиэнзимный комплекс. Рекомендуются использовать в рационах, богатых некрахмалистыми полисахаридами (особенно арабиноксиланами и бетаглюканами)                                                                                                                     |
| Энзимкомплекс         | Мультиферментный комплекс, содержащий ксиланазу, глюканазу, амилазу и протеазу.                                                                                                                                                                                                          |

### **1.3 Проблемы лабораторного анализа карбогидраз, принципы и проблемы**

С большим количеством ферментных препаратов одного назначения, выпускаемых различными фирмами-производителями, возникло много принципиальных технических проблем, связанных с оценкой их эффективности [76].

Проблемы для потребителя заключаются в сложности ориентирования в этом многообразии предлагаемых рынком препаратов и часто в невозможности их сравнения. Производители указывают специфические активности ферментов, как правило, руководствуясь своими понятиями об единицах активности и методах их определения. Предлагаемые методики анализа включают дорогостоящие субстраты и стандартные образцы, при этом субстраты в разных методиках могут различаться, а стандарты имеют заявляемые активности, получаемые по неизвестным методикам. В результате предлагаемый достаточно дорогостоящий анализ активности не обеспечивает сравнимости результатов. Некоторые авторы предлагают относительно простые инструментальные методы, как, например, определение белка в препарате. Однако в связи с тем, что в качестве кормовых добавок часто используют мультиэнзимные комплексы, содержащие разные активности, такие методы не дают полной картины [76].

Для определения ферментативных активностей используют самые разные методы анализа: спектрофотометрические, фотоколориметрические, рефрактометрические, вязкозиметрические и другие.

Кроме того, имеются объективные различия ферментных препаратов одного и того же назначения, связанные с методом изготовления, в частности, с природой и свойствами продуцентов (грибы, бактерии), что отражается на условиях проведения ферментативной реакции (рН, температуре, времени гидролиза).

В результате, потребителю остается ориентироваться на рекомендуемые в инструкциях по применению нормы ввода, а эффективность предлагается

принимать на веру или проверить производственным опытом, который занимает трудовые ресурсы и время.

Методы контроля ферментных препаратов базируются на основных положениях, описанных в Council Directive 93/113/ЕЕС:

- использование только определенных коммерческих субстратов;
- проведение реакции при фиксированных рН, времени инкубации, температуре, концентрации субстрата;
- определение продукта реакции на основе стандартного графика;
- оценивание результатов в интернациональных единицах: микромоль продукта, расщепленного в одну минуту 1 граммом ферментного препарата [123].

В Российской Федерации для анализа ферментативной активности гликозидаз: ксиланазы, бета-глюканызы, были разработаны и утверждены национальные стандарты – ГОСТ Р 53047-2008 «Препараты ферментные. Методы определения ферментативной активности ксиланазы», ГОСТ Р 54905-2012 «Препараты ферментные. Методы определения ферментативной активности β-глюканызы» [23, 24].

С целью унификации методик определения гликогидролаз (гликозидаз): ксиланазы, β -глюканызы, целлюлазы – во всех ГОСТах используются следующие условия проведения реакции: температура 50 °С, рН 4,7 с использованием 0,1 М ацетатного буфера, продолжительность гидролиза – 10 мин.

Указанные методики при правильном выполнении и мастерстве исполнителя позволяют получить понимание, насколько представленный ферментный препарат активен, сколько единиц той или иной активности в нем присутствует. Но это не дает понимания насколько этот препарат эффективен в отношении того или иного кормового сырья и что можно от него ожидать.

В настоящее время добавление кормовых ферментов при составлении рационов стало обыденным делом. НПС ферменты (ксиланаза, глюканыза и целлюлаза) по частоте использования занимают второе место в мире после

фитазы и первое место в России. Также применяются другие ферменты: протеаза, маннаназа, пектиназа, амилаза, галактозидаза и др.).

В связи с широким применением ферментов, рынок производства кормов, требует доступные, информативные и валидированные методы оценки активности ферментов, как в товарном продукте, так и в премиксах и комбикормах. Такое рутинное исследование по определению активности ферментов должно стать существенным шагом в контроле использования ферментов, качества их производства и применения [6, 97].

Реакция взаимодействия фермента с субстратом достаточно простая – фермент+субстрат=продукт реакции. Оценка активности фермента может быть определена как по уменьшению количества субстрата, так и по увеличению количества конечного продукта реакции. В случае с НКП-ферментами конечным продуктом реакции является моносахарид, который образуется в результате разрушения высокомолекулярного полисахаридного субстрата до низкомолекулярных субстратов, а затем последний разрушается до мономеров исходного полисахарида.

Продукт реакции, т.е. моносахарид, который, как правило, является редуцирующим (восстанавливающим), можно определить несколькими способами. Одним из общепринятых способов является метод с ДНС-реактивом (3,5-динитросалициловая кислота) [158]. Другой довольно известный способ – метод Шомоди-Нельсона [107]. Хотя и спорно, но есть мнение, что метод Шомоди-Нельсона лучше [151], однако метод с ДНС-реактивом значительно популярнее, потому что в методе Шомоди-Нельсона применяются более агрессивные и токсичные реактивы (арсено-молибденовый реактив) [107].

Способ, основанный на определении вязкости растворов, также используется для определения активности НКП-ферментов, в частности компания Адиссео (Франция) использует единицы вязкости в определении активности ксиланазы в Ровабио Эксель и Макс [97]. Этот метод основан на изменении (уменьшении) вязкости под действием НКП-ферментов и, хотя он

в значительной степени сходен с эффектом уменьшения вязкости в кишечнике, мало информативен в количественном выражении и занимает значительное время для выполнения [56, 80, 107].

Принципы исследования активности ферментов заключаются в том, что фермент инкубируется с субстратом в течение определенного времени, затем фермент инактивируется сильной кислотой или щелочью для остановки реакции, а затем количество разрушенного субстрата или количество накопленного в растворе моносахарида определяется колориметрически [173].

Для определения активности амилазы, ксиланазы и глюканызы может использоваться метод «окрашенных» субстратов, который может быть предоставлен в виде жидкости или таблеток. Специфичный субстрат сцеплен с краской, которая высвобождается по мере разрушения субстрата и измеряется колориметрически [136].

Определение активности ферментов проводится по утвержденной методике с определенным субстратом, при определенной температуре и в установленном интервале времени. Активность ферментов выражается в единицах активности, которая показывает количество фермента, необходимое для высвобождения 1 ммоль моносахарида за 1 мин ( $\mu\text{mol} \times \text{min}^{-1}$ ). Этот показатель применим для определения качества фермента при производстве, определении стабильности при хранении, после грануляции.

Определение активности НКП-ферментов в коммерческом продукте не вызывает особых проблем, в отличие от исследования активности в премиксах и комбикорме. При определении активности ферментов в комбикормах или премиксах возникают сложности из-за разнородности образцов, которые как правило приходят для исследования в количестве 100-500 грамм. Проведение исследований на таком объеме образца не практично из-за большого объема и стоимости такого исследования, поэтому макропробы необходимо превратить в микропробу весом 1-10 грамм путем проведения тщательной гомогенизации макропробы [144]. Благодаря такой предварительной подготовке образца возможно достичь высокой повторяемости полученных результатов при

анализе активности ксиланазы, глюканазы и целлюлазы [136, 129]. Не смотря на потенциальные проблемы, связанные с распределением фермента в образце комбикорма и возможными проблемами воспроизводимости результатов, есть доказательство того, что, применяя усилия по гомогенизации образца, можно избежать некоторые сложности получения удовлетворительного результата для большинства кормовых ферментов [107].

Исследование активности ксиланазы в комбикорме должно учитывать наличие ингибиторов ксиланаз. В конце 1990х годов были обнаружены специфические белки в пшенице, ингибирующие активность ксиланаз [191]. Дальнейшие исследования показали, что эти белки-ингибиторы делятся на 2 группы. Первая группа называется «протеины ингибирующие ксиланазу» (ПИК) (XIP – Xylanase Inhibitors Proteins), а вторая группа – «белки пшеницы *Triticum aestivum*, ингибирующие эндоксилазы (БПИК) (TAXI – *Triticum aestivum* endoxylanase inhibitors) [81, 179]. БПИК ингибиторы в свою очередь тоже делятся на 2 группы: БПИК-1 и БПИК-2. Эти ингибиторы имеют специфичность к ксиланазам разных семейств. Так, БПИК-1 ингибируют ксиланазы семейства GH 11, но БПИК-2 не влияют на это семейство в кислой pH зоне. ПИК ингибиторы воздействуют на оба семейства ксиланаз (GH10 и GH 11), кроме бактериального происхождения. Уровень ингибиторов может значительно колебаться в зависимости от происхождения пшеницы, региона и уровня ввода в комбикорм. [143, 189].

Экспериментальные данные, полученные на кафедре химической энзимологии МГУ им. М.В. Ломоносова, показали, что ингибирующие ксиланазы белки есть не только в пшенице, но и в ржи. Вязкость водных экстрактов ржи незначительно снижалась под действием ксиланаз (XYL I, XYL II,  $\beta$ -XYL), в отличии от значительного снижения вязкости в водном растворе чистого арабиноксилана под действием этих же ферментов [47].

Способ избежать эти проблемы при исследовании активности заключается в том, что необходимо выполнить следующие условия. Первое, для ксиланаз, продуцентом которых является *Trichoderma* spp., необходимо

использовать буфер с рН 4.7 при комнатной температуре. Второе, для ксиланаз, продуцентом которых является *Humicola spp.*, необходимо использовать буфер с рН 6,0 [154].

В Российской Федерации приняты несколько государственных стандартов по определению активности ксиланазы, глюканы, целлюлазы и амилазы. ГОСТы разработаны для разных отраслей промышленности, в частности, есть ГОСТы для ксиланазы и целлюлазы для целлюлозно-бумажной и спиртовой промышленности, а также для пищевой промышленности. Также разработаны ГОСТы с участием ВГНКИ и НПО «Лекбиотех» для определения активности ферментов в животноводстве при производстве комбикормов:

1. ГОСТ 31488-2012. Препараты ферментные. Методы определения ферментативной активности ксиланазы [19].
2. ГОСТ 31662-2012. Препараты ферментные. Методы определения ферментативной активности целлюлазы [20].
3. ГОСТ 34176-2017. Препараты ферментные. Методы определения ферментативной активности эндо- $\beta$ -глюканызы [21].

Также ГОСТ 54330-2011. Ферментные препараты для пищевой промышленности. Методы определения амилитической активности – разработан для пищевой промышленности, но им можно пользоваться при определении активности амилазы в комбикормах [22].

Указанные методы определения активности характеризуют фермент с точки зрения его активности, но не эффективности. Активность, как сказано выше, это работа фермента в «рафинированных» условиях при определенной температуре, рН, в установленном интервале времени и с химически чистым субстратом, которая показывает качество или, так сказать, его жизнеспособность с учетом срока годности, термостабильности, стабильности при хранении.

Эффективность фермента – это способность фермента сделать работу по разрушению субстрата с высвобождением моносахарида(ов) в «полевых»

условиях, т.е. температура, приближенная к температуре в ЖКТ - 39<sup>0</sup>С, рН приближенный к рН ЖКТ – 4,01 и 6,86, время – 1 час, а субстрат сложный, в виде зернового сырья или зерносмеси, а также с учетом ингибиторов ферментов. Кроме того, на наш взгляд, имеет большое практическое значение в оценке эффективности - поведение ферментов при смене рН с 4,01 в 6,86 и с 6,86 в 4,01, симулируя переход химуса в разные отделы ЖКТ, где также меняется рН среды с кислой в нейтральную и с нейтральной в кислую. Определенная таким образом эффективность может предсказать работу (результат) того или иного ферментного препарата в конкретных условиях на конкретном сырье и/или структуре комбикорма до того, как этот ферментный препарат будет использоваться в кормлении. Определить эффективность можно путем проведения кормовых тестов по увеличению питательности кормового сырья под действием ферментов [47] в нашей модификации. В качестве контроля для сравнения используется тоже сырье и те же условия, но без применения ферментного препарата.

#### **1.4 Различные подходы и использование большого многообразия единиц для оценки активности ферментов. Проблематика этого положения в кормлении с.-х. животных и птицы**

Сегодня не существует единого стандартного метода для определения активности ферментов, разрушающих НКП. Каждый производитель НКП-ферментов использует свой собственный подход, а также свои собственные условия анализа (рН, температуру, субстрат и т.д.). Поэтому каждый производитель даёт своё собственное понятие единицы активности НКП-ферментов [87].

Уровень активности ферментных препаратов является наиболее важным критерием, определяющим их эффективность. Исходя из величины ферментативной активности (или соотношения разных активностей), осуществляется подбор препарата и его дозировка. Методики определения

активности в разных исследовательских лабораториях, компаниях, странах существенно отличаются друг от друга. В настоящее время на рынке большое количество как зарубежных, так и отечественных кормовых ферментных препаратов для разрушения НКП. Они представляют собой продукты, полученные с помощью биосинтетических процессов, осуществляемых различными микроорганизмами, которые синтезируют внеклеточные ферментные комплексы или индивидуальные ферменты. Комплексные мультиферментные препараты обуславливают универсальность их действия на различные виды НКП и рационов [1].

По нашему мнению, наличие большого разнообразия единиц активности ферментов, которые применяют разные производители, обусловлен прежде всего тем, что каждому производителю удобно применять «свою» единицу активности для стандартизации своих ферментов при производстве. Очевидно, что прямым способом определения активности («активности по применению») является испытание «*in vivo*», то есть непосредственно при кормлении животных, однако, это не всегда возможно, особенно на стадии разработки и изготовления препарата. Поэтому в практике промышленной энзимологии при производстве и коммерциализации ферментов в качестве характеристики принято использовать значение активности, определенной «*in vitro*» - в условиях биохимической лаборатории без использования живых организмов [1].

Проблемы для потребителя заключаются в сложности ориентирования в этом многообразии предлагаемых рынком препаратов и часто в невозможности их сравнения. Производители указывают специфические активности ферментов, как правило, руководствуясь своими понятиями об единицах активности и методах их определения. Предлагаемые спецификациями методики анализа включают дорогостоящие субстраты и стандартные образцы, при этом субстраты в разных методиках могут различаться, а стандарты имеют заявляемые активности, получаемые по неизвестным методикам. В результате предлагаемый достаточно

дорогостоящий анализ активности не обеспечивает сравнимости результатов. Некоторые авторы предлагают относительно простые инструментальные методы, как, например, определение белка в препарате [10]. Однако в связи с тем, что в качестве кормовых добавок часто используют мультиэнзимные комплексы, содержащие разные активности, такие методы дают только ориентировочные данные. Кроме того, имеются объективные различия ферментных препаратов одного и того же назначения, связанные с методом изготовления, в частности, с природой и свойствами продуцентов (грибы, бактерии), что отражается на условиях проведения ферментативной реакции (рН, температуре, продолжительности гидролиза). В результате, потребителю остается ориентироваться на рекомендуемые в инструкциях по применению нормы ввода, которые предлагается принимать на веру [41].

В аспекте всех указанных причин мы, в итоге, имеем огромное количество коммерческих продуктов – мультиэнзимных композиций, которые невозможно ни адекватно оценить их активность, ни их эффективность. В результате, конечные потребители – производители мяса птицы и яйца, вынуждены проводить производственные испытания для подбора наиболее эффективного продукта на рынке, который бы удовлетворял их требования по цене и окупаемости затрат на него. Эти производственные испытания связаны с финансовыми и трудовыми затратами, отвлекая ресурсы предприятия на побочную деятельность, которая не связана с производственной.

Рядом авторов была проведена работа по сравнительному анализу большого ряда ферментных препаратов по единой, ими установленной, единице по ксиланазной, глюканизной и целлюлазной активности. Для определения всех активностей была принята единица активности, которая являлась количеством фермента, необходимого для получения 1 ммолья редуцирующего сахара (глюкозы в случае целлюлазной и глюканизной активностей и ксилозы в случае ксиланазной активности) в течение 1 минуты при температуре 50<sup>0</sup>С и рН 5,0. В качестве субстратов использовались лабораторные химически чистые субстраты: натриевая соль

карбоксиметилцеллюлозы для определения эндо-1,4-β-глюканазной активности; β-глюкан ячменя для определения эндо-1,3(4)-β-глюканазной активности; β-ксилан березы для определения эндо-1,4-β-ксиланазной активности [77]. Результаты этой работы представлены в виде графика, составленного по материалам проведенной работы (рисунок 1-3)

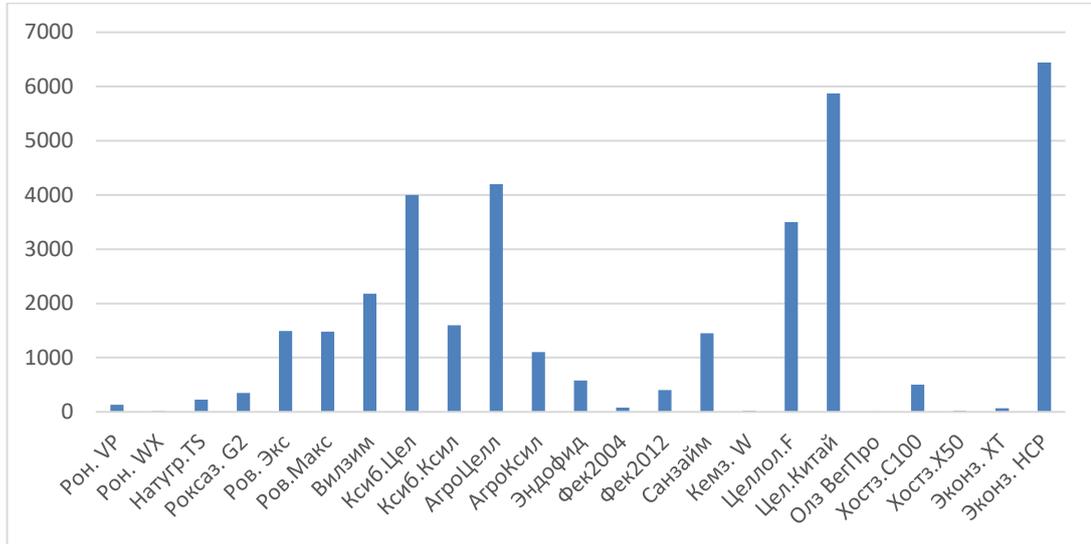


Рисунок 1 - Эндо-1,4-β-глюканазная активность

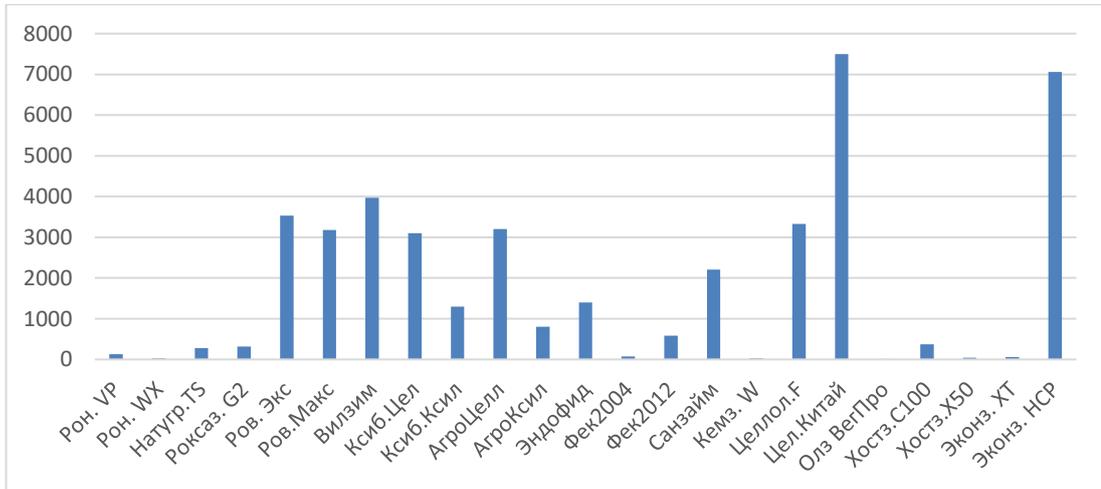


Рисунок 2 - Эндо-1,3(4)-β-глюканазная активность

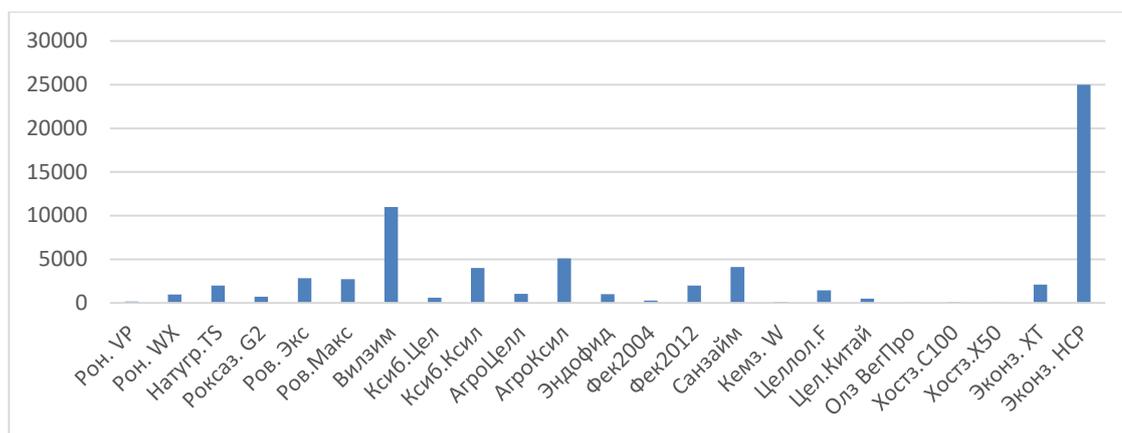


Рисунок 3 - Эндо-1,4-β-ксилазная активность

В качестве заключения, авторы указывают, что активность исследованных ферментных препаратов содержала все три указанные активности в разных соотношениях, что указывает на то, что все ферментные продукты являются мультиэнзимными композициями.

Заявленная производителем активность существенно отличалась от активности, которую определили авторы в результате сравнения. Во многих случаях определенная активность была значительно ниже заявленной производителем, в частности по ксиланазе, в некоторых случаях определенная активность была ниже заявленной производителем. Также авторы дают рекомендации потребителям оценивать ферменты по их методике перед применением.

По результатам этого сравнительного анализа, мы можем сказать, что авторы применяли температуру 50<sup>0</sup>С, которую невозможно достичь в желудочно-кишечном тракте животных и птицы. Также они применяли химически чистые субстраты, которые не имеют ничего общего с кормовым сырьем. Кроме того, их оценка полученных уровней активности разных ферментных препаратов не учитывает рекомендуемую производителем дозировку и было бы целесообразнее считать активность в пересчете на дозировку продукта и рассчитывать количество единиц, скажем на 1 кг комбикорма.

Например, Вилзим показал наличие 11000 ед/г ксиланазы по результатам работы авторов, а его рекомендуемая дозировка составляет 30

грамм на тонну корма, значит его активность в пересчете на 1 кг корма составляет 330 ед. ксиланазы. А Агроксил показал 5100 ед/г ксиланазы, но его рекомендуемая дозировка составляет 100 грамм на тонну корма, тогда его активность в пересчете на 1 кг корма составит 510 ед. ксиланазы.

Таким образом, активность ферментов в единицах может быть полезна только для оценки жизнеспособности фермента или его наличия, скажем, в комбикорме после грануляции или экструдирования, и нет возможности полагаться на единицы активности ферментов в производственных условиях, где характеристикой фермента может служить только определение его эффективности, либо путем проведения производственных испытаний, как делается сейчас, либо кормовых тестах «*in vitro*» в приближенных к ЖКТ условиях по температуре и рН среды.

В качестве подведения итогов по этой проблеме, надо сказать, что ситуация, которая сложилась в кормлении и кормопроизводстве, такова, что специалисты по кормлению на комбикормовых заводов, технологи и зоотехники животноводческих предприятий не могут полагаться на предлагаемые им методы оценки активности ферментных препаратов, опираясь на определение количества тех или иных единиц активности, а равно как и какой-то, скажем, единой, единицы активности, которая была бы кем-то установлена. Эта ситуация на сегодня, предполагает проведение предварительных производственных испытаний любого ферментной продукта, ранее не применяемые в данном предприятии, либо полагаться на рекомендации коллег и применять, полагаясь на веру.

В экспериментальной биохимии, особенно в энзимологии, конечно, остается необходимость проведения оценки единиц активности ферментов, т.к. это фундаментальное понятие в энзимологии и касается не только кормовых, но и любых других ферментов, в первую очередь, эндогенных. В лабораторных условиях, с научной точки зрения, такие методики приемлемы для оценки активности ферментов.

## 1.5 Физико-химические свойства основных субстратов для кормовых ферментов – полисахаридов и их мономеров

Основной частью органической материи на нашей планете являются клеточные стенки растений. Подсчитано, что ежегодно образуется и разрушается около  $10^{12}$  т клеточных стенок, что составляет в энергетическом эквиваленте  $1,8 \times 10^{19}$  кДж, делая данный материал идеальным возобновляемым источником сырья для различных отраслей промышленности [31].

Наиболее важные химические компоненты всех клеточных стенок - это полисахариды. Их можно разделить на две большие категории: те, которые существуют в составе стенки в кристаллической форме, и все остальные. Полисахариды первой категории - очень длинные неразветвленные молекулы, которые в клеточной стенке агрегированы в пучки, называемые микрофибриллами. Микрофибриллы заключены в матрикс, состоящий из полисахаридов клеточной стенки, которые не имеют кристаллической структуры. Полисахариды матрикса в свою очередь по химической структуре и растворимости делятся на пектины и гемицеллюлозы. Пектины хорошо экстрагируются кипящей водой, в то время как гемицеллюлозы растворимы лишь в 4М растворе КОН (микрофибриллярные полисахариды не растворимы ни в кипящей воде, ни в щелочи). Полисахаридную структуру клеточной стенки можно сравнить со структурой железобетона; при этом микрофибриллы эквивалентны стальным стержням арматуры, а полисахариды матрикса — окружающему их бетону. Следует заметить, что полисахаридный состав матрикса у различных типов растений может быть неодинаковым, поэтому не существует стандартных методов, с помощью которых можно было бы разделить полисахариды этих классов на подклассы; каждый биологический материал требует своей специфической обработки. Также в состав клеточных стенок растений высших растений входит лигнин (только клеточные стенки водорослей никогда не содержат этот фенилпропановый полимер), белки, выполняющие, по-видимому, структурную роль, и, в

некоторых случаях, неорганические включения, главным образом карбонаты и силикаты кальция [31, 176].

Основной микрофибриллярный полисахарид растительной клетки, находящийся в растительном сырье, представляющего интерес в качестве кормового сырья является целлюлоза. Кроме того, в растительном мире существует еще несколько микрофибриллярных полисахарида: хитин, содержащийся в большинстве грибов;  $\beta$ -1,4-маннан и  $\beta$ -1,3-ксилан, встречающиеся в клеточных стенках зеленых водорослей [31].

Целлюлоза – основной представитель микрофибриллярных полисахаридов кормового сырья. Целлюлоза представляет собой линейный полимер, ангидроглюкозные звенья которого связаны  $\beta$ -1,4-D-гликозидными связями. Структурным компонентом целлюлозы является целлобиоза, состоящая из 2-х молекул глюкозы, связанные  $\beta$ -1,4-D-гликозидной связью, при разрушении которой образуется 2 молекулы глюкозы. Степень полимеризации целлюлозы может достигать более 10 тыс, а молекулярная масса – более 1,5 млн. Степень полимеризации изменяется в зависимости от фазы роста растения. На ранних стадиях роста целлюлоза имеет низкую степень, пориста и обладает более высокой сорбционной способностью по сравнению с целлюлозой созревшего растения [83].

Целлюлоза представляет собой наиболее распространенный биополимер на Земле, который продуцируется растениями в пределах 180 млрд. тонн ежегодно. Растительные клеточные стенки содержат 35-50% целлюлозы, 20-35% гемицеллюлозы и 10-25% лигнина в сухом веществе [178]. Целлюлоза – это нерастворимый в воде полисахарид. Ангидроглюкозные остатки чередуются перевернутыми на  $180^{\circ}$  по отношению друг к другу [109].

Целлюлоза - классический пример полимера, макромолекулы которого имеют линейное строение, и который характеризуется повышенной скелетной жесткостью [78].

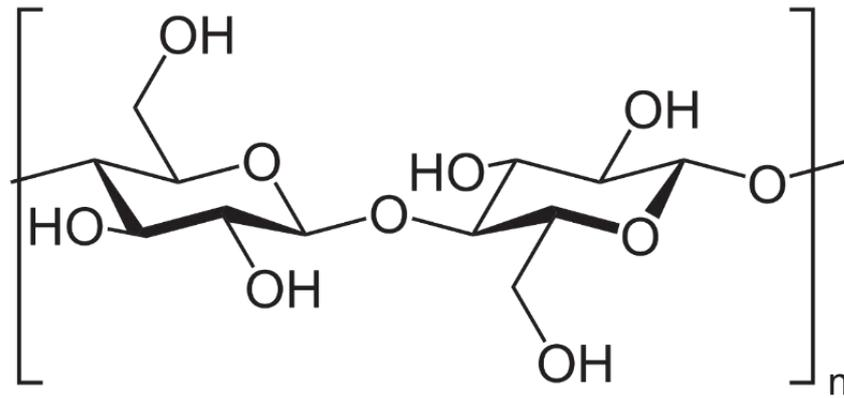


Рисунок 4 – Строение структурного компонента целлюлозы - целлобиозы

Конфигурация макромолекулы целлюлозы дает возможность реализации внутри- и межмолекулярных взаимодействий (рисунок 4). Современная точка зрения на структуру целлюлозы имеет в своей основе теорию аморфно-кристаллического ее состояния и основывается на данных электронографических, рентгенографических и других исследований. Как и все гидрофильные линейные полимеры, целлюлоза обладает склонностью к образованию первичных (элементарных) фибрил, в которых группы параллельно расположенных цепей макромолекул связаны между собой множественными водородными связями. Первичная фибрилла представляет собой наименьшее надмолекулярное звено целлюлозы [47].

Макромолекулы целлюлозы в первичных фибриллах образуют однородные высокоупорядоченные кристаллические зоны (кристаллиты), которые чередуются с неоднородными менее упорядоченными аморфными зонами. В кристаллитах существует трехмерный дальний порядок в расположении цепей целлюлозы. В аморфных участках дальний порядок отсутствует, и сохраняется лишь общая продольная направленность цепей. В аморфных участках относительно легко могут проходить реакции целлюлозы с другими веществами. Длина макромолекул целлюлозы значительно больше длины кристаллических участков, поэтому каждая макромолекула проходит последовательно ряд кристаллических и аморфных участков. Первичные фибриллы целлюлозы соединяются между собой с помощью водородных

связей в микрофибриллы, которые и являются основными звеньями строения волокон целлюлозы [47].

Интересен тот факт, что целлюлоза не разрушается действием одного фермента, в частности, целлюлазой, а требует действия целого каскада ферментов, каждый из которых готовит специфический субстрат для следующего. Например, целлюлаза (1,4-эндоглюканаза) разрушает связи в аморфных участках целлюлозы, подготавливая короткие цепи с концевыми остатками, которые являются субстратом для экзоглюканаз (целлобиогидролаз). Целлобиогидролазы формируют образование целлобиоз, которые в свою очередь уже разрушаются на 2 молекулы глюкозы  $\beta$ -глюкозидазой [103, 108]. На сегодня есть данные, что участки кристаллической целлюлозы способны разрушать целлобиогидролазы, постепенно отрезая концевые глюкозные остатки с невозстанавливающихся концов цепи.

В целях изучения целлюлозы представлено несколько целлюлозных субстратов с широкой степенью кристаллизации. Бактериальные микрокристаллические целлюлозы (*Acetobacter xylinum*) обладают высокой степенью кристаллизации. Примером служит субстрат, выделенный из отбеленной древесной пульпы, который представляет собой фильтровальную бумагу или салфетки. Кроме того, широко используются замещенные целлюлозы: гидроксиэтилцеллюлоза (ГЭЦ) и карбоксиметилцеллюлоза (КМЦ) – в качестве субстратов для определения целлюлозолитической активности кормовых ферментов [142].

**Полисахариды матрикса.** Полисахариды матрикса растительной клетки подразделяются на два класса: гемицеллюлозы (ксиланы, глюканы, маннаны, галактаны) и пектины. В основе такого подразделения лежит различие в их растворимости. Гемицеллюлозы редко встречаются в виде простых полисахаридов и очень часто имеют смешанное строение: глюкоксиланы, арабиноксиланы, арабиногалактаны, ксилоглюканы и т.д., поэтому мы рассмотрим кратко представителей таких смешанных полисахаридов,

представляющих интерес для нас в кормлении и биохимии животных. Гемицеллюлозы составляют около 20% клеточной стенки растений. В зависимости от источника (и способов выделения), молекулы гемицеллюлоз могут иметь как линейную, так и разветвленную структуру [122].

Функциональная роль гемицеллюлоз заключается в осуществлении взаимосвязи основных компонентов клеточной стенки за счет формирования переходного слоя между ними. В первичной клеточной стенке они объединяют пектины и целлюлозу, во вторичной - целлюлозу и лигнин [122].

**$\beta$ -глюканы** клеточной стенки зернового сырья – это водорастворимые (гидрофильные) или неводорастворимые (гидрофобные) полисахариды с (1-3) или (1-4)- $\beta$ -D-связями (в зависимости от стадии созревания зерна, сорта, места произрастания и т.п.). Наличие (1-3) связей ломает однородную структуру глюканов и делает их водорастворимыми и гибкими. Например,  $\beta$ -глюкан ячменя (*Hordeum vulgare*) содержит в основном целлотриозы и целлотетрозы, связанные (1-4) связями, которые соединяются между собой (1-3) связями [112, 163, 196]. Олигосахариды, полученные воздействием (1-3),(1-4)- $\beta$ -D-глюкан-4- глюканогидролазы, известной как лихеназа, на (1-3),(1-4)- $\beta$ -D-глюкан из зерновых злаков, могут быть определены, используя метилирование. Используя этот метод, для Овсяные  $\beta$ -глюканы включают  $\beta$ -(1-3)-связанные в фрагменты целлотриозил (3-O-  $\beta$ -целлобиозил-D-глюкоза, DP3) и целлотетраозила (3-O-целлотетраозил-D-глюкоза, DP4) с небольшим числом областей, содержащих 4-8 последовательных (1-4)- $\beta$  связанных единиц. Большинство глюканов молодого зерна имеют высокую степень гидрофильности, что выражается в повышении вязкости химуса при применении такого зерна в кормлении. Это вызывает ряд проблем с пищеварением (осмотическая диарея, нарушение всасывания питательных веществ) [93, 181].

**$\beta$ -ксилан** – полисахарид гемицеллюлозы, найденный во всех земных растениях: древесине, травянистых растениях и злаках [66, 137, 156]. Ксилан – наиболее распространенный компонент гемицеллюлозы на Земле после

целлюлозы и второй, наиболее распространенный полисахарид в природе. Ксиланы составляют 30-35% в составе стенки растительной клетки однолетних растений (травы и злаки), 15-30% в составе стенок клеток твердой древесины и 7-10% - в мягкой древесине [164, 174, 195]. Благодаря значительному присутствию ксиланов в зерне злаков, они рассматриваются как наиболее распространенный антипитательный фактор кормового сырья [100, 101, 93, 174].

Основная цепь ксилана имеет в составе остатки ксилозы, связанные (1-4)- $\beta$ -связями [104, 195].

Существует 2 основных типа арабиноксиланов зерновых, первый из которых выделили из тканей эндосперма, а второй тип – из остальных тканей. Однако, оба типа ксиланов имеют L-арабинозу в ответвлениях основной цепи в положении 3 (наиболее часто) или 2 (значительно реже) и всегда в фуранозной форме [104, 195].

Ксиланы из ткани эндосперма, выделенные из злаков сильно разветвленные и они имеют двойные ответвления арабинозы в положениях 3 и 2 одновременно [195]. Цепи ксилана могут пересекаться друг с другом этерифицированными остатками феруловой кислоты.

**Ксилоглюканы** служат связующим звеном между целлюлозой и другими полисахаридами в первичной клеточной стенке, а также в семенах однодольных и двудольных растений. Основная цепь ксилоглюкана построена из  $\beta$ -1,4-связанных D-глюкопиранозных остатков, к которым присоединена ( $\alpha$ -1,6-связью) D-ксилопираноза или D-ксилопиранозил- $\beta$ -D-1,2-галактоза. В ксилоглюканах двудольных растений встречаются боковые цепи и с более сложной структурой (фукозил- $\alpha$ -1,2-галактозил- $\beta$ -1,2-ксилозил) [47, 137].

**Глюканы и ксиланы в кормовом сырье** - клеточные стенки зерновых и других семян содержат гемицеллюлозы, такие как арабиноксиланы и бета-глюканы, целлюлозу, пектиновые остатки, лигнин, фенолы и протеины [172]. Химически, полисахариды двудольных растений, в частности, бобовых или масличных культур, значительно сложнее устроены, в отличии от

однодольных растений, и их структура до конца не изучена. Хотя много было предпринято попыток разработки ферментов для семян двудольных растений, основные ферменты на рынке сфокусированы для зерна злаков [147].

Пропорциональное соотношение содержания полисахаридов в клеточной стенке зависит от многих факторов: генетика растения, климат, стадия развития, уровень использования азотистых удобрений, а также послеуборочное дозревание зерна [60, 152].

Гидрофильность глюканов и арабиноксиланов варьируется от зерна к зерну. Это зависит от размера молекул растворимой фракции полисахаридов, и это, как было отмечено ранее, существенный фактор, влияющий на продуктивность животных и птицы, особенно продуктивность бройлеров. Доля водорастворимых фракций в бета-глюкане ячменя в 4 раза больше, чем в пентозанах, в то время как в ржи, доля водорастворимых пентозанов в 3 раза больше, чем бета-глюканов. В ячмене содержится в среднем 54% водорастворимых бета-глюканов, а в овсе – до 80% [98].

Целлюлоза и гемицеллюлозы являются в большинстве своем антипитательными факторами при кормлении животных и птицы, которые необходимо контролировать несколькими способами, либо ограничением их ввода в корма, либо применением веществ, способных к их разрушению, либо применять оба приема сразу.

Полисахариды клеточной стенки имеют как минимум два изученных отрицательных способа воздействия на пищеварительную систему.

Первый, как было отмечено, арабиноксиланы и глюканы в основном содержатся в стенках крахмальных зерен, а также в стенках клеток алейронового слоя, которые содержат протеины, и тем самым являются препятствием для действия эндогенных пищеварительных ферментов животных и птицы, которые не могут проникнуть к питательным веществам. Это так называемый «коробочный» эффект. Второй, как также уже было отмечено, это наличие водорастворимых полисахаридов, которые при попадании в ЖКТ животных и птицы, в основном моногастричных,

увеличивают вязкость химуса, нарушая тем самым перистальтику кишечника, вызывают осмотическую диарею, препятствуют действию эндогенных ферментов, у цыплят происходит залипание клоаки. [181]. Молодняк свиней меньше страдает от высокой вязкости химуса в отличие от молодняка птицы. Уровень водорастворимых полисахаридов в зерне нового урожая, не прошедшем послеуборочную фазу созревания, в 5-10 раз больше, чем в зерне прошлого года [61].

### **1.6 Роль НКП в качестве антипитательных факторов при кормлении цыплят-бройлеров**

Некрахмалистые полисахариды кормового сырья относят к естественным антипитательным факторам углеводной природы [3].

В настоящее время нет способа прямого определения уровня содержания НКП в кормовом сырье, поэтому их уровень определяется путем определения каждого из них. Сырая клетчатка, в среднем, состоит из:

- Целлюлозы – до 80%
- Гемицеллюлозы – от 10% и выше
- Лигнина – около 8%
- Соли минералов – около 2%

Из зерновых культур на первом месте по содержанию НКП стоят рожь, овес, ячмень. Шрота, жмыхи, отруби и другие отходы переработки растительного сырья содержат НКП в значительном количестве.

Как было уже отмечено в этой работе, а также рядом авторов, целлюлоза является нерастворимым представителем НКП и поэтому все представители моногастрических не переваривают целлюлозу своими пищеварительными ферментами.

Как отмечалось выше, арабиноксиланы и глюканы являются представителями гемицеллюлоз, которые обладают двойным антипитательным эффектом: первый – они способны набухать и т.о. повышать

вязкость химуса в ЖКТ, а второй – они запечатывают питательные вещества злаков и препятствуют их усвоению, т.н. «коробочный» эффект.

Пектины – моно- и гетерополимеры глюконовой кислоты являются слизями и тоже повышают вязкость содержимого кишечника, препятствуя тем самым усвоению питательных веществ.

В целом, избыток НКП в рационах для птицы в общем, и для цыплят-бройлеров в частности (более 4% от массы рациона) существенно препятствует доступу пищеварительных ферментов к питательным веществам, вызывают неэффективное расходование желудочно-кишечных секретов, ухудшая использование питательных веществ рациона. [3]. У цыплят-бройлеров в особенной степени слабо развита собственная ферментативная система пищеварения [32, 46].

В итоге возникают два отрицательных последствия: жидкий и клейкий помет у цыплят, высоко вероятно залипание клоаки, развивается инфекция и снижается продуктивность. По обобщенным данным, если обрушить овес и ячмень, то уровень содержания клетчатки снижается до 2-3,5% у ячменя, и 4-4,5% у овса, однако, проблема не решается, т.к. внутри зерна остается содержание как целлюлозы, так и гемицеллюлозы [82].

Содержание некрахмалистых полисахаридов в кормах приведено в таблице 3.

Таблица 3 – Содержание НКП в кормах (по В.С. Крюкову, 1996)

| Кормовые средства | Содержание в расчете на сухое вещество, % |                  |             |             |
|-------------------|-------------------------------------------|------------------|-------------|-------------|
|                   | Клетчатка                                 | $\beta$ -Глюканы | Пентозаны   | Прочие НКП  |
| Кукуруза          | 1,9 – 3,0                                 | 0,1 – 0,2        | 4,0 – 4,3   | 5,5 – 11,7  |
| Пшеница           | 2,0 – 3,4                                 | 0,2 – 1,5        | 5,5 – 9,5   | 7,5 – 10,5  |
| Ячмень            | 4,2 – 9,3                                 | 1,5 – 10,7       | 5,7 – 7,0   | 13,5 – 17,2 |
| Овес              | 8,0 – 12,0                                | 3,1 – 6,6        | 5,5 – 6,9   | 12,0 – 29,6 |
| Рожь              | 2,2 – 3,2                                 | 0,5 – 3,0        | 7,5 – 9,1   | 10,6 – 12,8 |
| Соевый шрот       | 3,4 – 9,9                                 | -                | 3,0 – 4,5   | 18,0 – 22,7 |
| Пшеничные отруби  | 10,6 – 13,6                               | -                | 15,0 – 25,0 | 22,0 -33,7  |

Цыплята-бройлеры, которые получают в составе комбикормов ячмень, пшеницу или рожь, имеют жидкий и вязкий помет, что ухудшает состояние

подстилки, повышается ее влажность, увеличивается образование аммиака. Также это приводит к залипанию клоаки у цыплят до 14-20 дневного возраста, что может увеличивать отход молодняка по этой причине [181, 102].

Рядом зарубежных ученых были проведены работы по оценке НКП в составе рационов для бройлеров. Это содержание НКП рассматривалось как потенциал для повышения усвоения обменной энергии при разрушении этих НКП. Например, М. Чоуст в 2015 провел анализ содержания НКП в рационе для бройлеров на примере рационов, применяемых в Австралии (таблица 4).

Таблица 4 – Рацион для бройлеров

|                                 |      |
|---------------------------------|------|
| Кукуруза (9% СП), %             | 57,0 |
| Соевый шрот (47,5% СП), %       | 31,0 |
| Рапсовый жмых (36% СП), %       | 5,0  |
| Прочее, %                       | 7,0  |
| Содержание питательных веществ: |      |
| Углеводы, %                     | 59,5 |
| Сырой протеин, %                | 22,3 |
| Сырой жир, %                    | 4,0  |

Содержание углеводов в этом рационе было «разобрано» на составляющие разновидности (таблица 5).

Таблица 5 – Содержание разновидностей углеводов в рационе

| Углеводы      | Кукуруза     | Соевый шрот  | Рапс        | <b>Итого</b> |
|---------------|--------------|--------------|-------------|--------------|
| Крахмал       | 393,0        | -            | 2,5         | <b>395,5</b> |
| Фруктан       | 3,4          | 2,8          | 0,5         | <b>6,7</b>   |
| Олигосахариды | 1,7          | 19,0         | 1,0         | <b>21,7</b>  |
| Сахара        | 14,8         | 18,7         | 3,0         | <b>36,5</b>  |
| НКП           | 56,9         | 68,5         | 10,6        | <b>136,0</b> |
| <b>Итого</b>  | <b>470,0</b> | <b>109,0</b> | <b>17,0</b> | <b>595,0</b> |

Далее, общее содержание НКП также было «разобрано» на составляющие (таблица 6).

Таблица 6 – Содержание НКП в рационе для бройлеров

|               | НКП, всего | Целлюлоза | Пектин | Пентозаны |
|---------------|------------|-----------|--------|-----------|
| Кукуруза      | 57         | 12        | -      | 45        |
| Соевый шрот   | 69         | 20        | 49     | -         |
| Рапсовый жмых | 10         | 4         | 6      | -         |
| Всего         | 136        | 36        | 55     | 45        |

Таким образом, в рационе для цыплят-бройлеров находится 136 г/кг некрахмалистых полисахаридов, из которых 26% - клетчатка, 40% - пектин и 34% - арабиноксилан. Клетчатку мы можем разрушить с помощью ферментного каскада целлюлаз (эндо-(1,4)- $\beta$ - глюконазы), целлобиогидралаз, экзо-гликозидаз и других и получить глюкозу, которая будет являться дополнительным источником обменной энергии. При разрушении арабиноксилана с помощью ферментного каскада ксиланаз мы получим ксилоолигосахариды, которые будут являться пребиотиками, ксилозу, которую использует полезная микрофлора кишечника, а также значительно снизим вязкость химуса, что повысит усвояемость всех питательных веществ, а не только энергии. В этом и состоит источник повышения усвояемости, применения матриц питательности и снижения себестоимости кормления [115, 156].

### **1.7 Описание и свойства кормовых НКП-ферментов и их практическое применение в практике кормления**

**Классификация НКП-ферментов.** Кормовые НКП-ферменты традиционно классифицируются энзимным комитетом (ЕС) биохимического комитета номенклатуры Международного союза биохимии и молекулярной биологии [106]. Все кормовые НКП-ферменты находятся в группе гликозил-гидролаз (ЕС 3.2.1.х). Классификация строится как на типе реакции фермента, так и на специфичности к субстрату, на который он действует. Например, глюконаза разрушает глюкан, а ксиланаза разрушает ксилан. Это разные подгруппы одной большой группы. Большинство гликозил-гидролаз являются эндоферментами, разрушая гликозидные связи внутри цепи полисахарида и, соответственно, быстро снимая гидрофильность последних. [105].

**Эндо-1,4- $\beta$ -глюканаза (целлюлаза, ЕС 3.2.1.4)** гидролизует (1-4) гликозидные связи в целлюлозе, лихенине и  $\beta$ -глюканах зерновых злаков в основной цепи полисахарида. **Эндо-1,3(4)- $\beta$ -глюканаза (ЕС 3.2.1.6)**

катализирует эндогидролиз (1-3) или (1-4) связей в  $\beta$ -глюканах, где восстанавливающие группы глюкозных остатков сами вовлечены в (1-3) связи.

В соответствии с этим, важно отметить разницу в действии этих эндоглюканаз. Эндо-1,3(4)- $\beta$ -глюканаза способна разрушать (1-4) связи только в глюканах, где есть (1-3) связи, в то время как эндо-1,4- $\beta$ -глюканаза (целлюлаза) способна разрушать (1-4) связи как в линейном, так и в разветвленном глюкане (т.е. даже при наличии (1-3) связей) [108]. В мультиферментных препаратах, как правило, присутствуют оба этих фермента, также участвующие в ферментном каскаде целлюлозы и глюканов.

**Эндо-1,4- $\beta$ -ксиланаза** - основной фермент, разрушающий основную цепь ксилана – гидролизует эндогликозидные 1-4 связи в ксилане и классифицируется в IUB под номером EC 3.2.1.8 [108].

Классификация ферментов по IUB не зависит от структурных особенностей ферментов и, следовательно, имеется и другая система классификации, основанная на строении ферментов [145]. Эта классификация основана на сходстве структур молекул и последовательностей аминокислот между ферментами. Благодаря накоплению данных о последовательностях генов и трехмерной структуре молекул в последнее время, это значительно облегчило положение в биохимии в целом и в энзимологии в частности. База данных этой классификации представлена в базе CAZy (Carbohydrate-Active enZymes) на интернет-ресурсе [www.cazy.org](http://www.cazy.org) и содержит 115 семейств гликозид-гидролаз. Например, в семейство GH 5 входят ферменты, классифицированные по IUB: EC 3.2.1.4, EC 3.2.1.73, в GH 7 – EC 3.2.1.4, в GH 12 – EC 3.2.1.4, в GH 45 – EC 3.2.1.4, в GH 16 – EC 3.2.1.39, EC 3.2.1.6, EC 3.2.1.73. CAZy – база данных размещает все бета-глюканазы в 10 семейств. По Collins и др., все ксиланазы в базе CAZy относятся к семействам GH 5, 7, 8, 10, 11 и 43, и, в дополнении, GH 16, 52 и 62, и содержат бифункциональные ферменты, которые содержат как минимум один ксиланазный модуль. Большинство описанных ксиланаз принадлежат группам GH 10 и 11 [120].

Семейства гликозид-гидролаз сгруппированы в кланы на основе трехмерной структуры ферментов [131, 146].

**Углевосвязывающие модули кормовых ферментов.** Большинство целлюлаз и многие гемицеллюлазы содержат углед-связывающий модуль (УСМ) на N- и С- концах. Первоначально этот модуль назывался целлюлоза-связывающий домен (ЦСД), поскольку они были выделены из целлюлаз и показали сродство с целлюлозой [114]. УСМ усиливают сродство фермента с нерастворимыми субстратами, но не влияют на это сродство в случае с растворимыми субстратами [113].

Все целлюлазы, полученные от *Trichoderma reesei*, а также маннаназы и некоторые другие ферменты, участвующие в ферментном каскаде, разрушающем целлюлозу, имеют небольшой УСМ, 36-38 аминокислот и определяются только в ферментах выделенных от грибов [110, 118].

Встречаются ферменты, содержащие более одного УСМ, при этом их механизм действия может быть как одинаковым, так и различаться, причем их сродство может быть как к гидрофильным ксиланам, так и к гидрофобным  $\beta$ -1,3(1,4)-глюканам [155].

Каталитический центр фермента и УСМ обычно связаны друг с другом соединителем из последовательности аминокислот в молекуле фермента и могут функционировать раздельно [140, 131].

Соединитель играет 2 роли: 1) – разделитель между разными функциональными доменами; 2) – медиатор возможных взаимодействий между разными функциональными доменами. Соединители имеют от 6 до 59 аминокислот и не зависят от гриба-продуцента. Есть мнение, что соединители помогают ферментным молекулам быть более устойчивыми к действию протеаз [130].

**Механизм действия кормовых НКП-ферментов.** В большинстве случаев гидролиз гликозидной связи катализируется двумя аминокислотными остатками фермента: аминокислотой - донором протонов и аминокислотой - нуклеофилом / основанием [191]. В зависимости от пространственного

положения этих каталитических остатков гидролиз происходит посредством либо сохранения аномерной конфигурации, либо полной инверсии аномерной конфигурации. Для каждого семейства, указанного в базе данных CAZy, указывается стереохимический результат катализируемой реакции, а также тип аминокислотных остатков, действующих в качестве нуклеофила / основания и в качестве донора протонов. В некоторых случаях каталитический нуклеофил не переносится ферментом и заменяется ацетамидогруппой у C-2 субстрата [177]. Совсем недавно был продемонстрирован совершенно не связанный механизм для двух семейств гликозидаз, использующих NADH в качестве кофактора.

В соответствии с вышесказанным, различают два типа реакции, в результате которой, фермент разрушает гликозидную связь. Первая относится к категории «сохраняющие» ферменты – изменение аномерной конфигурации субстрата не происходит. Вторая относится к категории «инверсионные» ферменты – происходит изменение аномерной конфигурации субстрата в результате энзимной реакции [169].

**Грибковые целлюлазы и глюканы.** Есть понимание того, что лишь незначительное разрушение полисахаридной цепи или уменьшения вязкости достаточно для эффективного кормления животных вместо полного разрушения полисахарида до простых сахаров. Однако, есть и другое мнение, что полное разрушение полисахарида до простых сахаров более предпочтительно, т.к. дает значительное количество дополнительной обменной энергии. Это дает основание применять матрицы питательности при составлении рационов.

**Целлюлазы** – это группа ферментов, которые разрушают аморфные участки целлюлозы и/или линейный 1,4-β-глюкан. Целлюлазами мы называем 1,4-β-глюканы, которые способны разрушать линейный глюкан, где нет разветвленных связей 1,3; 1,3(4); 1,6; 1,1. Глюканами мы называем группу ферментов, которые разрушают разветвленные 1,3(4), 1,6, 1,3-разновидности β-глюканов, но не способны разрушать линейные глюканы, где нет 1,3-связей.

Ферменты этого класса – ЕС 3.2.1.4 – эндоглюканаза (целлюлаза), ЕС 3.2.1.91 – экзо-1,4-β-целлобиозидаза, ЕС 3.2.1.21 – β-гликозидаза или целлобиаза. Целлобиогидролазы разрушают кристаллические участки целлюлозы, в то время как глюканазы разрушают аморфные участки.

Присутствующие на рынке сейчас целлобиогидролазы (1,4-β-целлобиозидаза) и эндоглюканазы, в большинстве своем грибкового происхождения. Целлобиогидролазы имеют экзо-действие, отрезая от концов цепи молекулы целлобиозы, постепенно уменьшая длину полисахарида. Однако, часть целлобиогидролаз (семейства СВНII/Cel6) отрезает с невозстанавливающего конца цепи, а другая часть (семейства СВНI/Cel7) режет с восстанавливающего конца [105].

Эндоглюказаны *Tr. reesei* при исследовании на субстрате в виде глюкана ячменя показывают оптимум в пределах pH 5,0-7,0 и T 65<sup>0</sup>C [108]. В 2002 году, коммерческий препарат глюканазы и ксиланазы из Триходермы, Роксазим G2 недостаточно хорошо поддерживал глюканазную активность при испытании с температурой гранулирования 75<sup>0</sup>C и 85<sup>0</sup>C, сохраняя 58 и 25% соответственно [198]. В настоящее время термостабильность ферментов требует более высоких значений.

Другие нитчатые грибы – *Aspergillus niger* и *Aspergillus oryzae* давно применяются для производства ферментов, главным образом, крахмал- и пектин-модифицирующих. На рынке существует много коммерческих продуктов с бета-глюканазой и ксиланазой, полученных от *A.niger* и *A. Oryzae* (BASF, GNC Bioferm Inc., Danisco, Novo-DSM). Анализ неочищенного коммерческого фермента показал наличие семь активных белков с бета-глюканазной активностью с лишенином в качестве субстрата. Оптимум pH сырого неочищенного продукта был 5,0, но отдельные белки проявляли высокую энзиматическую активность в диапазоне pH 4,0-6,0 [192].

Адиссео производит и продает по всему миру продукт Ровабио Эксель из *Penicillium funiculosum*, содержащий комплекс НКП-ферментов, включая

глюканы. Комплекс глюканаз из Ровабио показывал оптимальную активность при pH 3,0 – 5,0 и температуре 60 - 65<sup>0</sup>C [165].

Информации о разработке термоустойчивых кормовых глюканаз недостаточно. В основном термостабильность ферментов достигается инкапсулированием продукта в термостабильную защитную оболочку, что позволяет проходить грануляцию до 95<sup>0</sup>C с минимальными потерями. Попытки производства термостальной эндо-1,4-β-глюканы из семейства GH 5 были предприняты в 2002 году из продуцента *Thermoascus aurantiacus* [119, 198].

**Бактериальные целлюлазы и глюканы, целлюлозом.** На сегодня бактериальные глюканы получают только из рода *Bacillus*. Все описанные бета-глюканы, полученные из этого рода бактерий относятся к семейству GH 16 и имеют высокую 1,3-1,4-глюканазную активность (ЕС 3.2.1.73) в отношении 1,4-связей в глюканах имеющих 1,3-связи [148]. Ренозимы имеют 1,3(4)-β-глюканазу (ЕС 3.2.1.6), полученную из *B. amyloliquefaciens*.

Род *Bacillus* производит эндоглюканы семейства GH 5 и часть семейства GH 45 [186, 170]. В этих глюканах были обнаружены УСМ семейств: СВМ3, СВМ4, СВМ5, СВМ17, СВМ 28 [113].

Анаэробные целлюлозолитические бактерии, живущие в рубце жвачных обладают совершенно другой системой разрушения клетчатки, в отличие от аэробных грибов и бактерий. Они синтезируют многокомпонентные комплексы ферментов и целлюлозо-связывающие модули, которые называются целлюлозомами [186].

**Ксиланы.** Ксиланы в основном все локализованные в группе ЕС 3.2.1.8, являются эндо-1,4-β-ксиланазами [120, 199]. Они разрушают 1,4 – связи в ксиланах случайным образом, в результате образуются неразветвленные (линейные) ксилоолигосахариды. Как было отмечено ранее, для использования в кормлении достаточно частичного разрушения ксилана для снижения вязкости, что уже дает эффект для пищеварения, но для полного

разрушения этих полисахаридов нужен каскад ферментов, который уже был упомянут в предыдущих разделах [141, 182, 197].

Благодаря широкому применению ксиланаз в текстильной, целлюлозобумажной, пищевой и кормовой промышленности, их биохимические, энзимные и производственные свойства очень хорошо изучены. В настоящее время как в России, так и за рубежом продолжается исследование ксиланаз разных материнских, гибридных и рекомбинантных микроорганизмов-продуцентов для разных целей применения: производство бумаги, тканей, продуктов питания, хлебопечении, кормлении и т.п. [47, 79, 81, 157, 109, 120, 141, 153, 199, 180, 182, 197].

Ксиланазы могут быть ингибированы белками-ингибиторами, чувствительность к которым варьируется в зависимости от ксиланазы [160]. На сегодня описано 3 типа ингибиторов, которые находятся в зерновых злаках [141, 175]. Первый тип – БПИК (TAXI)- белки пшеницы, ингибирующие ксиланазы – имеют вес 40 кДа и подразделяются на 2 группы – БПИК-1 и БПИК-2. Эти БПИК специфичны для ксиланаз семейства GH 11. Второй тип – ПИК (XIP) – протеины ингибирующие ксиланазы – имеют вес 29 кДа (второе название – хитиназа-подобные злаковые ингибиторы). Этот тип специфичен к обоим семействам ксиланаз GH 10 и GH 11, благодаря наличию в составе двух независимых связывающих модуля [187]. Третий тип – ТПИК (TL-XI) – тауматин-подобные ингибиторы ксиланаз. Этот тип еще не описан. В кормлении и производстве комбикормов важно обращать на это внимание, чтобы в коммерческих продуктах ксиланазы применялись устойчивые к ингибиторам. Такие ксиланазы уже разработаны и присутствуют на рынке.

Ксиланазы в коммерческих продуктах разных производителей получены и из бактерий и из нитчатых грибов. Также надо отметить, что ксиланазы получают как из обычных штаммов-продуцентов так и из генетически-модифицированных. Бактерии рода *Bacillus* и нитчатые грибы родов *Aspergillus*, *Humicola*, *Penicillium* и *Trichoderma* используются в качестве штаммов-продуцентов [157].

Некоторые в последнее время полученные ксиланазы от мутантных штаммов *B. Subtilis* являются устойчивыми к БПИК и ПИК [183, 175]. Однако, энзимная активность мутантных ксиланаз была на 14% ниже по сравнению с естественными типами ксиланаз. Более того, устойчивые к БПИК и ПИК мутантные ксиланазы имеют значительно сниженную энзимную активность (на 74-86%) по сравнению с дикими типами. [183].

Большинство ксиланаз, входящих в коммерческие продукты, являются грибкового происхождения. *Trichoderma*, *Talaromyces*, *Aspergillus*, *Humicola*, *Penicillium* и *Thermomyces* являются или донорами гена или продуцентами ксиланаз [184, 94].

*Aspergillus niger* and *Aspergillus oryzae* также очень популярные продуценты грибковых ферментов и, в частности, кормовых ксиланаз. Физико-химические особенности этих ксиланаз были хорошо изучены [193]. *A. niger* дает одну ксиланазу (36 кДа) семейства GH 10 и четыре ксиланазы семейства GH 11 (23, 24, 25 и 28 кДа). С помощью *A. oryzae* получают 4 ксиланазы семейства GH 10, 4 семейства GH 11, и одну семейства GH 7 [139].

Ксиланазы *Humicola* sp. применяются в основном в пищевой промышленности, в частности, для осветления сусла и фильтрации пива [168]. Однако, мы знаем, как минимум один коммерческий продукт, применяемый в кормлении – Bio-Feed Plus (Novo-DSM), содержащий ксиланазы и целлюлазы, полученный из *Humicola insolens* с встроенным геном от *Aspergillus* [92, 108]. Хотя нет данных, что этот продукт зарегистрирован в качестве кормовой добавки в РФ [[www.irena.ru](http://www.irena.ru)].

Все ксиланазы из *P. funiculosum* разрушаются ингибиторами ксиланаз, но в разной степени. Например, ксиланаза В разрушается только БПИК-I, ксиланаза С разрушается ПИК-I, БПИК-I и БПИК-II, а ксиланаза D разрушается только ПИК-I [91, 138]. Результаты анализов фермента Ровабио Эксель (Rovabio Excel, Adisseo, основной коммерческий продукт из *P. funiculosum*) показали наличие в продукте всех вышеперечисленных ксиланаз, а также ксило- и целлобиогидролаз [166].

### **1.8 Влияние условий ЖКТ у с.-х. птиц, состава и особенностей производства комбикорма на эффективность работы кормовых ферментов НКП-ферментов и обоснование установленных параметров**

Ферменты, добавленные в рацион, должны оказывать свое действие в течение короткого времени от момента увлажнения корма в переднем отделе пищеварительного тракта до момента, когда остатки корма проходят через тонкий кишечник. Кроме того, диапазон рН, встречающийся в ЖКТ, должен соответствовать их активности и не должен угрожать их стабильности. Ферменты должны быть в состоянии противостоять пищеварительным процессам, чтобы функционировать, и противостоять активности пищеварительных протеаз хозяина, а также желчным кислотам. Эта матрица состояния будет определять масштаб и изменение активности фермента, добавляемого в рацион, и, следовательно, его биологический эффект. Поэтому важно понимать эти условия пищеварения и то, как они могут варьироваться, чтобы можно было предсказать полезный потенциал добавленных ферментов [108].

Большинство НКП-ферментов имеют оптимальное значение рН от 4,0 до 5,0, но могут существовать большие отличия между различными источниками ферментов, которые возобновляют каталитическую активность как при более низком, так и более высоком рН. Ксиланазы обычно имеют рН оптимум в диапазоне 4,0 – 6,0 [193]. Другие исследователи наблюдали максимальную активность ксиланаз при других значениях рН, например, в диапазоне 4,5 – 5,5 (рисунок 5). В целом надо отметить, что ксиланазы склонны проявлять наибольшую активность в слабокислых средах, в то время как глюкоканазы показывают максимальную активность в нейтральной среде в диапазоне рН 6,5 – 7,5 [185].

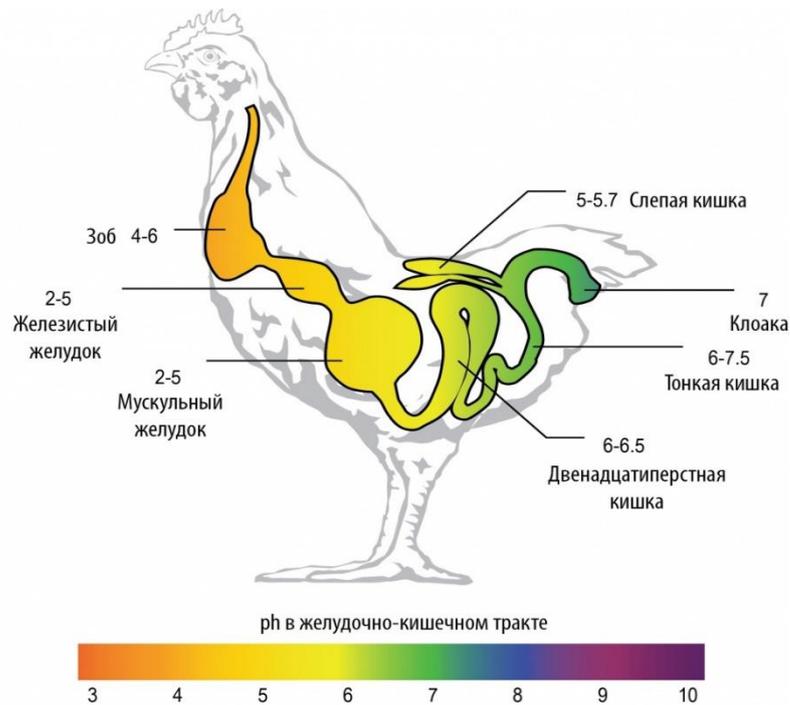


Рисунок 5 – Уровни pH в различных отделах ЖКТ у кур [46].

Большинство исследователей сходятся во мнении, что в дополнение к pH, активность ферментов сильно зависит от температуры. Большинство энзимов, используемых сейчас в коммерческих целях, имеют температурный оптимум в пределах 45 - 65<sup>0</sup>С. По этой причине нам важно иметь возможность работы с ферментными препаратами, температурный оптимум которых лежит в пределах 38 - 42<sup>0</sup>С, что в большей степени соответствует температурному режиму внутри ЖКТ [48].

Интересный факт в том, что влажность субстрата также имеет значение. Было показано, что продукт, содержащий ксиланазу и глюкканазу имел незначительную активность при влажности 25-35%, а при влажности 45% его активность выросла весьма значительно [167].

В птицеводстве мы наблюдаем быстрое прохождение химуса по ЖКТ и у цыплят-бройлеров, и у кур-несушек. Во многих опытах наблюдалось первое появление помета после 2,0 – 2,5 часов после кормления предварительно голодавшей птицы, а маркеры полностью выходили в течение 12 часов [4, 32].

Очень важный вопрос – выживаемость НКП-ферментов в протеолитической среде в ЖКТ. Большинство исследований показывает, что

активность ферментов, прошедших этот отдел ЖКТ не теряют активности, либо теряют ее незначительно.

Физиология кормления птицы также позволяет применять методы, которые позволят повышать эффективность работы ферментов в верхних отделах ЖКТ до их попадания в кислую среду. Например, перевод цыплят-бройлеров с кормления «вволю» на дробное кормление, позволит тренировать птицу использовать зоб как промежуточный орган, где корм будет задерживаться более длительное время, что даст возможность ферментам в большей степени работать там. Так, дробное кормление каждые 4 часа позволяет задерживать корм в зобе до 2 часов [32, 46].

**Влияние состава комбикорма и отдельного сырья на эффективность кормовых ферментов.** В этом разделе надо отметить то сырье и тот состав комбикорма, который может влиять на изменение рН и буферной емкости корма.

Ингредиенты корма, которые могут изменять рН весьма удачно могут применяться при составлении рационов. В частности, в зобе в начале кормления может быть рН значительно выше, а в желудке значительно ниже, чем рН-оптимум большинства НКП-ферментов. Несмотря на то, что это направление еще недостаточно изучено, уже есть сведения, которые говорят, что рН в зобе и мышечном желудке может быть изменена с помощью применения органических и неорганических кислот и солей кальция. В то же время в птицеводстве этот метод имеет свои особенности. В зобе рН надо снизить, а в мышечном желудке несколько увеличить, таким образом, необходимо применять быстро диссоциирующие кислоты для зоба и крупнозернистые источники кальция (калиброванный известняк) для повышения рН в желудке. В корме для кур-несушек содержится много известняка, что уже априори значительно повышает рН в мышечном желудке. Таким образом, стратегия для кур-несушек заключается в применении большего объема цельноструктурных частиц в корме (цельное зерно, отруби) для увеличения времени нахождения химуса в желудке. Снижение рН в зобе у

цыплят-бройлеров с 6,0 до 5,0 имеет потенциал увеличения эффективности ферментов.

В некоторых опытах не было обнаружено синергического эффекта между ферментами и органическими кислотами при снижении рН в зобе с 5,2 до 4,9. Низкий рН в контроле в этом испытании и малый эффект добавки могут, таким образом, быть причиной отсутствия положительного эффекта. Кроме того, в этом исследовании не было оценки времени задержки корма в зобе [188].

Зерно злаков является основным кормовым ингредиентом в составе кормов, которое является основным источником арабиноксиланов и  $\beta$ -глюканов для разрушения которых мы применяем  $\beta$ -глюканазу и ксиланазу [99]. Зерно кукурузы, пшеницы, ячменя и тритикале являются основными представителями злаковых, используемых в кормлении. До недавнего времени считалось, что поскольку кукуруза содержит небольшое количество глюканов, незначительное количество клетчатки и всего 0,5% растворимых арабиноксиланов, то применение НКП-ферментов в рационах на основе кукурузы является неоправданным приемом, однако, современное понятие этого вопроса сводится к тому, что кукуруза содержит также 5% нерастворимых арабиноксиланов в стенках клеток, которые включают крахмал и протеин, создавая «коробочный» эффект и ограничивая их доступность. Большинство опытов с применением ксиланазы в большей степени и глюканазы в меньшей степени показывают значительный положительный эффект на среднесуточный привес и конверсию корма у цыплят-бройлеров [62, 127, 126, 150]. Применение амилаз также показывает положительный эффект [150, 133]. Применение комбинации НКП-ферментов с амилазой и протеазой дает стойкий положительный эффект на снижение конверсии корма у цыплят-бройлеров [62, 108].

Вязкость химуса является важным антипитательным фактором и препятствием в поддержании здоровья ЖКТ в птиц [61, 115, 135]. Проблема высокой вязкости химуса остро проявляется при скармливании молодого

зерна, не прошедшего послеуборочное созревание [61]. В дополнении к вязкости зерна надо отметить, что наличие растворимых фракций гемицеллюлозы повышает эффект повышенной пролиферации бактерий в тонком кишечнике [115, 116].

Гранулирование и экструзия вызывают разрыв клеточной стенки, что приводит к значительному уменьшению размера частиц [161, 162]. Процесс гранулирования и экструзии не только разрушает структуру клеточной стенки, но также приводит к тому, что большая часть растворимых гемицеллюлоз становится вязкой. Поскольку было показано, что содержание растворимых волокон и вязкость увеличиваются в ходе этих процессов, нельзя исключать, что этот эффект отменяет положительный эффект разрыва клеточной стенки [171].

Независимо от описанного выше механизма, НКП-ферменты улучшают переваримость питательных веществ кормов, содержащих совершенно различные партии разного зерна пшеницы и ячменя, особенно этот эффект выше применительно к зерну с изначально низкой питательностью [115, 116, 135].

**Влияние условий кормопроизводства на эффективность кормовых ферментов.** Большинство кормовых ферментов являются чувствительными к высокой температуре за исключением ряда ферментов, в частности, амилаз, полученных от термофильных штаммов рода *Bacillus*. Таким образом, ферменты имеют способность терять свою активность при повышении температуры. [194, 134]. Высокая температура и наличие пара способствуют денатурации, т.к. температура в этом случае быстро превышает максимально допустимую для устойчивости фермента [149, 134].

В общем этот механизм заключается в том, что молекулы воды взаимодействуют с молекулами фермента через нековалентные Вандервальсовы связи и могут даже способствовать конформационной стабильности фермента, формируя мембрану вокруг него [95]. Когда в дальнейшем температура воды повышается, то молекулы воды достигают

другого энергетического уровня, они начинают дестабилизировать молекулы фермента по концентрационно-зависимому типу [132]. Т.е. избыток воды приводит к денатурации ферментов уже начиная с температуры 60<sup>0</sup>С, хотя часть ферментов показывают стабильность и при температуре 80<sup>0</sup>С [132].

Практически 99% кормов для бройлеров и частью кормов для кур-несушек производится гранулированным, где температура повышается до 80<sup>0</sup>. [162]. Безусловно, этот процесс сильно зависит от состава комбикорма, размера отверстий матрицы и применения технологических добавок (масло, жиры, вода, эмульгаторы и т.д.). Низкое содержание воды и короткое время экспозиции в кондиционере являются факторами, ограничивающими деградацию ферментов. Таким образом, прогнозирование степени инактивации ферментов при добавлении в рационы до гранулирования не является простым. Этот факт объясняет эффективность применения гидрогенизированных рицинолеатов в качестве эмульгатора, который убирает свободную воду из кормосмеси во время нахождения в кондиционере гранулятора, снижая тем самым разрушительную силу воды на ферменты [73].

Все крупные компании стараются производить коммерческие препараты ферментов в защищенной форме (жировые оболочки (Хювефарма), минеральные покрытия (Даниско, Новозаймс) либо изначально термостабильные (использование термофильных штаммов, выращивание продуцента на субстрате при максимально возможной повышенной температуре). Кроме того, закладывается значительно большая активность ферментов для случайных потерь, в том числе от температуры и давления. Другое перспективное направление – производство жидких форм ферментов, которое предусматривает финишное напыление препарата на гранулы после грануляции и остывания [71].

При нагревании крахмала происходит его желатинизация с образованием клейстеров, хотя считается что это незначительно влияет на проблемы пищеварения у птиц. Само по себе нагревание не вызывает увеличения количества гидрофильных НКП, однако, явно с ним происходят процессы, повышающие вязкость [150]. Таким образом, термообработка

корма с содержанием гидрофильных НКП действует негативно двумя способами: увеличивает вязкость и снижает эффективность ферментов из-за этого [108].

Использование биоинженерных технологий позволило получить термостабильную ксиланазу в рамках изучаемых возможностей получения уже термостабильных ферментов.

**Обоснование установленных параметров при проведении исследований.** Проанализировав все вышеуказанное и сделав выводы по применению выбранных параметров рН при проведении исследований по определению эффективности НКП-ферментов был определен рН для проведения научно-лабораторной части этой работы по среднему показателю в зобе (рН 4,01) и тонком кишечнике (рН 6,86) при температуре 39<sup>0</sup>С, что является наиболее вероятной температурой внутри зоба и кишечника  $\pm 1^{\circ}\text{C}$ . Сменой рН в процессе инкубации в водяной бане навески кормового сырья с ферментом было имитировано перемещение химуса из зоба в желудок и из желудка в кишечник. Время инкубации навески в водяной бане с ферментом выбрано по 1 часу для каждого значения рН при первоначальной его установке и 1 час после смены рН до получения надосадочной жидкости. Общее время взаимодействия навески с ферментом составило 2 ч. В опытах был выбран рассыпной комбикорм, чтобы убрать фактор возможного частичного снижения активности ферментов во время процесса грануляции.

## 2 МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

В целях проведения экспериментов и получения результатов научная работа была проведена в 3 этапа: научно-лабораторный опыт был проведен в условиях ООО "Научно-исследовательского центра «Черкизово», первый научно-хозяйственный опыт был проведен в условиях птицефермы КФХ ИП Фитисов Г.Н., пос. Озерный Кавказского района Краснодарского края, второй научно-хозяйственный опыт – НИЦ безопасности и эффективности кормов и добавок ФГБОУ ВО Волгоградский ГАУ г. Волгограда.

Исследования проводились с 2019 по 2023 гг. Во время научно-лабораторного опыта проводилась оценка эффективности мультиферментных препаратов по их способности проводить гидролиз НКП в кормовом сырье (пшеница, ячмень, кукуруза, подсолнечный жмых и их смесь) и выделять простые сахара. В научно-хозяйственных опытах проводилась оценка эффективности различных кормовых мультиферментных композиций по результатам физиологических, зоотехнических, гематологических и экономических показателей выращивания бройлеров. Производственная апробация проводилась в НИЦ безопасности и эффективности кормов и добавок ФГБОУ ВО Волгоградский ГАУ г. Волгограда.

Общая схема проведенных исследований показана на рисунке 6.

Научно-лабораторный опыт был проведен в НИЦ «Черкизово», в результате которого была определена эффективность ферментативного гидролиза НКП кормового сырья и его смеси по уровню выделения простых сахаров под действием различных мультиферментных композиций, примененных в первом исследовании. Уровень содержания простых сахаров определяли по оптической плотности методом спектрофотометрии при длине волны 540 нм в нашей модификации (таблица 7).

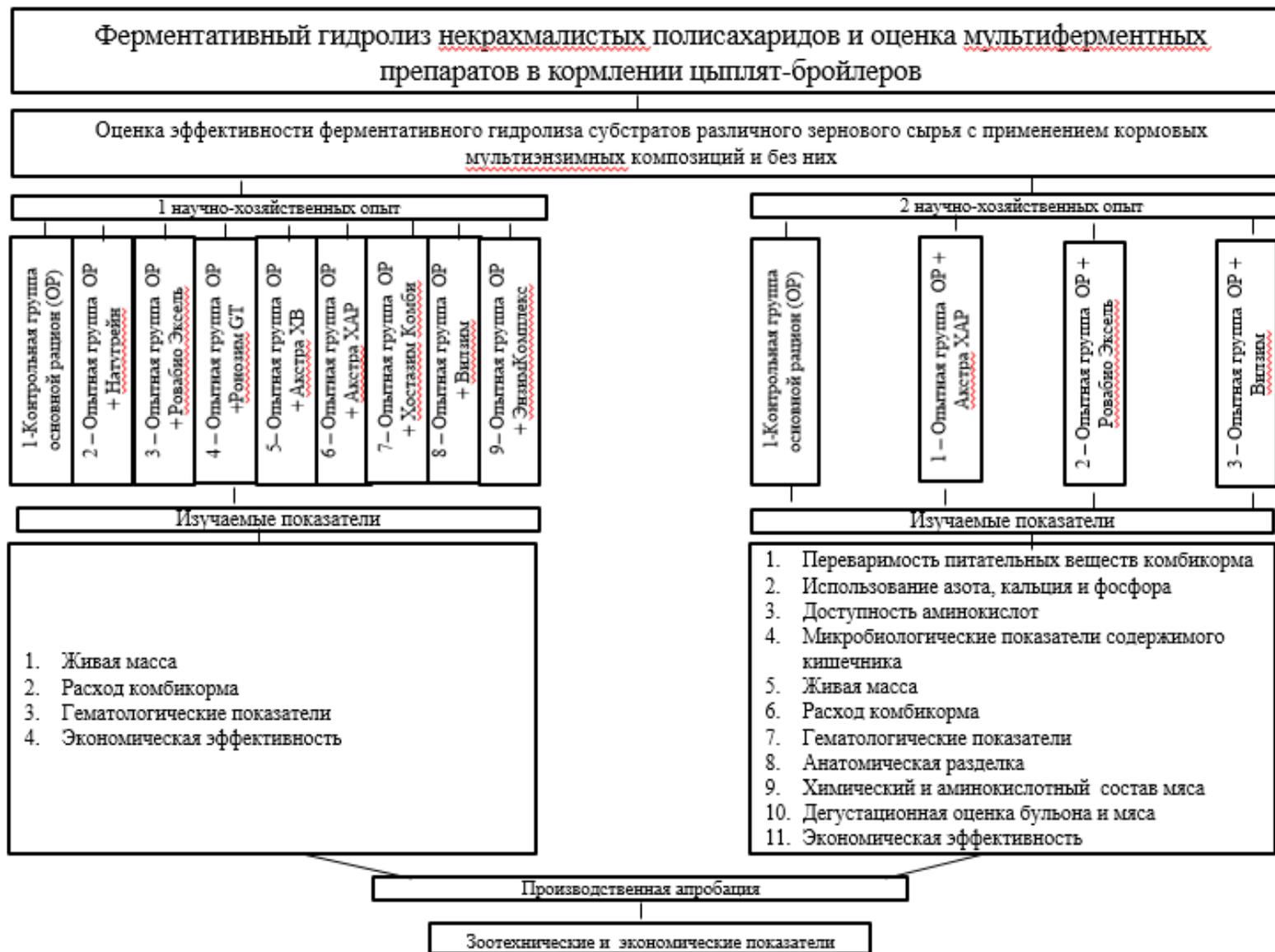


Рисунок 6 – Общая схема исследований

Таблица 7 – Кормовое сырье и его смесь

| № п/п | Наименование кормового сырья | Год сбора урожая/производства | Место сбора урожая |
|-------|------------------------------|-------------------------------|--------------------|
| 1     | Пшеница                      | 2018                          | Тамбовская область |
| 2     | Ячмень                       | 2018                          | Ростовская область |
| 3     | Кукуруза                     | 2018                          | Краснодарский край |
| 4     | Жмых подсолнечный            | 2019                          | Ростовская область |
| 5     | Зерносмесь                   | 2019                          | Московская область |

Все мультиферментные препараты зарегистрированы в качестве кормовых добавок в РФ и приведены в таблице 8.

Таблица 8 - Перечень мультиферментных препаратов, компании и страны изготовления, регистрационные номера в реестре кормовых добавок РФ.

| № группы | Название мультиферментного препарата | Дозировка, г/т | Компания-производитель, страна происхождения | Регистрационный номер в реестре кормовых добавок РФ* |
|----------|--------------------------------------|----------------|----------------------------------------------|------------------------------------------------------|
| 1        | Контрольная группа без фермента      | -              | -                                            | -                                                    |
| 2        | Натугрейн                            | 100            | BASF SE, Германия                            | ПВИ-2-8.6/02089                                      |
| 3        | Ровабио Эксель                       | 50             | Adisseo SAS, Франция                         | ПВИ-2-0.2/01102                                      |
| 4        | Ронозим Мультигрейн                  | 125            | Novozyes A/S, Дания                          | ПВИ-2-5.15/04595                                     |
| 5        | Акстра ХВ                            | 100            | Danisco Animal Nutrition Великобритания      | ПВИ-2-12.14/04473                                    |
| 6        | Акстра ХАР                           | 100            | Danisco Animal Nutrition Великобритания      | ПВИ-2-12.14/04471                                    |
| 7        | Хостазим Комби                       | 100            | Biovet AD, Болгария                          | ПВИ-2-3.14/04218                                     |
| 8        | Вилзим                               | 20             | Enmex S.A. de C.V., Мексика                  | ПВИ-2-5.0/03167                                      |
| 9        | ЭнзимКомплекс                        | 750            | ООО НПЦ «Агросистема», РФ                    | ПВР-2-33.13/02977                                    |

\* - ссылка <https://galen.vetrif.ru/#/registry/feed/registry?page=1>

В опытах использовались суточные цыплята-бройлеры кросса Росс 308, полученные с предприятия ИПС «Первомайская» ст. Крыловская, Ленинградского района Краснодарского края (первый научно-хозяйственный

опыт) и АО «Птицефабрика «Краснодонская» Иловлинского района Волгоградской области (второй научно-хозяйственный опыт).

При проведении научно-хозяйственных опытов бройлеров в суточном возрасте формировали в группы по принципу аналогов (схожие по возрасту, развитию, происхождению), применяя метод случайной выборки.

Во всех подопытных группах были соблюдены равные условия содержания птицы. Плотность посадки, фронт кормления и поения, а также параметры микроклимата были выдержаны согласно Руководству по выращиванию бройлеров Росс 308 компании Aviagen Group [7, 8, 74].

Нормы кормления соответствовали Спецификации рационов кросса Росс 308 компании Aviagen Group [9] и руководству по кормлению птицы ВНИТИП.

Подопытные цыплята-бройлеры содержались напольно. Доступ к корму и воде был свободным.

Методы исследований были определены в соответствии с целью и задачами работы. Исследования выполнялись согласно методическим рекомендациям ВНИТИП.

Всю подопытную птицу кормили комбикормами, сбалансированными по питательности согласно рекомендациям ВНИТИП и требованиям к кормлению кросса.

Все виды химических анализов выполняли в соответствии с разработанными методическими указаниями, используемыми для зоотехнических лабораторий [45].

Согласно ГОСТ Р 54951-2012, ГОСТ 32044.11-2012, ГОСТ 31675-2012, ГОСТ 32933-2014, ГОСТ 13496.15-2016, ГОСТ 26570-95, ГОСТ 26657-97, ГОСТ 13496.1-98 исследовали химический состав кормов, комбикормов, помета и мяса (мышцы грудки и бедра).

В образцах кормов, комбикормов, помета и мяса (мышцы грудки и бедра) определяли: первоначальную влажность с помощью высушивания навески образца до постоянной массы при  $t = 60-65$  °С; гигроскопическую влажность — высушивания навески образца при  $t=105$  °С, аналогично до

постоянной массы. По методу Кьельдаля определяли в образцах азот, с пересчетом в сырой протеин. Содержание сырого жира в образцах определяли на аппарате Сокслета, путем экстрагирования навески этиловым спиртом. Определение сырой клетчатки в кормах, комбикормах и помете проводили по методике Генненберга и Штомана. Путем сухого озоления образцов при  $t=450-500\text{ }^{\circ}\text{C}$  определяли сырую золу.

По ГОСТУ Р 54905-2012 проводили подготовку ДНС-реактива для определения оптической плотности сахаров при проведении кормовых тестов.

Содержание тяжелых металлов в мясе определяли по ГОСТ, так массовую долю свинца — ГОСТ 30692-2000; кадмия — ГОСТ 30178-96; ртути — ГОСТ 31650-2012; мышьяка — ГОСТ Р 51766-2001.

В ходе проведения научно-хозяйственных опытов на бройлерах учитывали показатели:

Сохранность поголовья птицы определяли путем ежедневного учета павшей птицы, с установлением причин отхода.

Живую массу цыплят-бройлеров - путем индивидуального еженедельного взвешивания птицы.

Потребление комбикормов определяли ежедневно по группам, с последующим пересчетом на один килограмм прироста живой массы бройлеров.

В соответствие с методикой проведения научных и производственных исследований по кормлению сельскохозяйственной птицы, предложенной ВНИТИП, определяли переваримость питательных веществ комбикормов, использование азота, кальция и фосфора и доступность аминокислот.

В.И. Фисинин с соавторами рекомендует: «Из каждой подопытной группы необходимо отобрать по 6 голов бройлеров и разместить в специальные индивидуальные клетки с выдвигающимся дном. В период проведения физиологического опыта вести ежедневный учет заданного количества воды, комбикорма, не съеденных кормовых остатков и выделенного помета» [51].

В конце периода выращивания забор крови выполняли из подкрыльевой вены цыплят-бройлеров. В камере Горяева подсчитывали количество эритроцитов и лейкоцитов. Определяли биохимические показатели: общий белок, альбумин, глюкозу, кальций, фосфор в сыворотке крови на биохимическом анализаторе (Сапфир, Япония).

Сразу после контрольного убоя осуществляли отбор проб содержимого слепых отростков желудочно-кишечного тракта бройлеров (1-3 мл) для дальнейшего изучения микробиологических показателей [53].

Также в конце периода выращивания определяли мясную продуктивность цыплят-бройлеров путем анатомической разделки тушек (3 курочки и 3 петушка из каждой группы) согласно методике ВНИТИП [51].

После анатомической разделки тушек согласно методическим рекомендациям ВНИТИП проводили органолептическую оценку вареного и жареного мяса (аромат, вкус, консистенция, сочность) и бульона (аромат, вкус, прозрачность, наваристость) [51].

Энергетическую ценность мышц грудки и бедра изучали по формуле В.М. Александрова:

$$K = [C - (Ж + 3)] \times 4,1 + (Ж \times 9,3),$$

где С — содержание в мышцах грудки и бедра сухого вещества;

Ж — содержание в мышцах грудки и бедра жира;

З — содержание в мышцах грудки и бедра золы.

Кроме того, определяли сравнительную экономическую эффективность по методике ВНИТИП [5, 50, 54].

Все полученные цифровые данные были обработаны биометрически с применением программы «Microsoft Excel 2020Эк», используя методику Плохинского Н.А. с установлением достоверности различий между признаками в соответствие с критерием по Стюденту по трем порогам достоверности (\* $P \geq 0,95$ ; \*\* $P \geq 0,99$ ; \*\*\* $P \geq 0,999$ ) [65].

### 3 РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

#### 3.1 Сравнительная эффективность действия ферментных препаратов в кормовом сырье (in vitro) (научно-лабораторный опыт)

Первый этап исследований – научно-лабораторный эксперимент был проведен в условиях Научно-исследовательского центра «Черкизово» дер. Яковлевское, Московская область.

В качестве кормового сырья, которое использовалось при проведении научно-лабораторного опыта, были следующие зерновые культуры: пшеница, ячмень, кукуруза, а также продукт переработки подсолнечника: подсолнечный жмых, и зерносмесь, которая состояла из вышеуказанных кормовых ингредиентов в соотношении, которая указана в таблице 9.

Таблица 9 – Кормовое сырье и его смесь

| № п/п | Наименование кормового сырья                                                                | Год сбора урожая/производства | Место сбора урожая |
|-------|---------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------|--------------------|
| 1     | Пшеница                                                                                     | 2018                          | Тамбовская область |
| 2     | Ячмень                                                                                      | 2018                          | Ростовская область |
| 3     | Кукуруза                                                                                    | 2018                          | Краснодарский край |
| 4     | Жмых подсолнечный                                                                           | 2019                          | Ростовская область |
| 5     | Зерносмесь в составе: пшеница – 35%, ячмень – 20%, кукуруза – 30%, жмых подсолнечный – 15%. | 2019                          | Московская область |

Химический состав кормового сырья и его смеси в таблице 10.

Таблица 10 – Химический состав кормового сырья и его смеси

| № п/п | Показатель химсостава | Ед. изм. | Пшеница | Ячмень | Кукуруза | Жмых подсолн | Зерно-смесь |
|-------|-----------------------|----------|---------|--------|----------|--------------|-------------|
| 1     | Сырой протеин         | %        | 11,32   | 10,93  | 8,23     | 31,67        | 13,38       |
| 2     | Сырой жир             | %        | 1,64    | 1,98   | 4,02     | 10,26        | 3,71        |
| 3     | Сырая клетчатка       | %        | 2,73    | 5,82   | 2,11     | 19,45        | 5,68        |
| 4     | Сырая зола            | %        | 1,81    | 2,78   | 1,28     | 7,42         | 2,67        |
| 5     | БЭВ                   | %        | 71,10   | 64,98  | 71,74    | 14,88        | 61,63       |

Подготовка пробы сырья включает в себя визуальный осмотр сырья, установление возможных примесей и/или свойственных или не свойственных включений, семян сорных растений, минеральных или неорганических включений.

На рисунке 7 представлена иллюстрация этапов подготовки пробы кормового сырья для исследования в этом эксперименте.



Рисунок 7 – Иллюстрация этапов подготовки пробы сырья к исследованию

Для уменьшения коэффициента вариабельности в соответствии с ГОСТ ISO 6498-2014, последовательность операций была следующей: отбирали первоначальную пробу 500 грамм, затем проводили грубое измельчение с диаметром сита 4-5 мм, затем делали аналитическую (репрезентативную) пробу 100 грамм и проводили тонкое измельчение с диаметром сита 1 мм.

Для этого использовали ультрацентрифужную мельницу ZM200 (Retsch) (рисунок 8).



Рисунок 8 – Ультра центробежная мельница ZM200 (Retsch).

Такая система подготовки проб к исследованию применялась для каждого вида кормового сырья и его смеси. При подготовке пробы из зерносмеси, предварительно подготовленную и смешанную смесь в пропорции: пшеница 35%, ячмень 20%, кукуруза 30% и жмых подсолнечный 15% измельчали также как описано выше и получали аналитические пробы и навески. Из каждого вида сырья подготавливали по 5 навесок.

### **Подготовка буферных растворов**

Для проведения кормовых тестов использовал 2 вида буферных растворов: буфер рН 4,01 (калий фталевокислый) и буфер рН 6,86 (калий-фосфатный).

Для приготовления буфера 4,01 использовал стандартный рН-титр рН 4,01, содержимое ампулы которого переносил в мерную колбу объемом 1000 мл и растворял в объеме дистиллированной воды 300 мл, затем объем доводил до метки 1000 мл.

Для приготовления буфера 6,86 использовал стандартный рН-титр рН 6,86, содержимое ампулы которого также переносил в мерную колбу 1000 мл и растворял в объеме дистиллированной воды 300 мл, затем объем доводил до метки 1000 мл.

## Методика проведения кормовых тестов (ферментативный гидролиз кормового сырья)

После подготовки кормового сырья для ферментативного гидролиза подготавливали его проведение (рисунок 9).

Навеску 50 г каждого кормового сырья размещали в химические стаканы объемом 600 см<sup>3</sup>, которые маркировали специальным маркером для точной идентификации: на каждом стакане ставили название кормового сырья и фермента. В контрольной пробе маркировали «без фермента». Навески делали на весах VIBRA с пределом взвешивания 0,02 – 420 грамм, с точностью взвешивания 0,001 грамм.

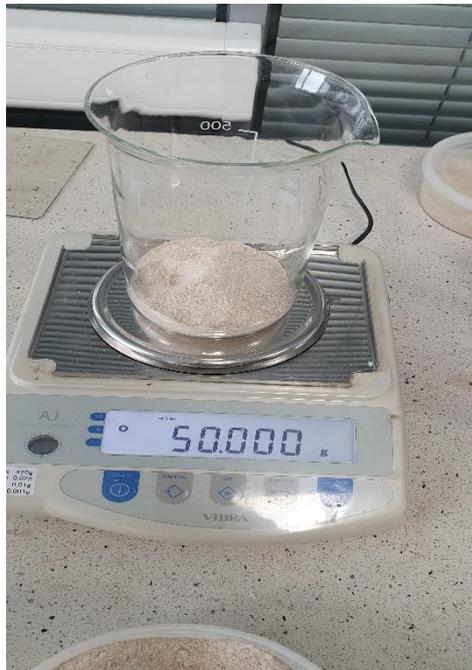


Рисунок 9 - Выполнение навески кормового сырья (пшеница) 50 г на весах VIBRA

Таким же образом выполняли все навески кормового сырья по 50 г в маркированные химические стаканы и выставляли их на пластиковый поддон (рисунок 10).



Рисунок 10 - Стаканы с навесками кормового сырья (пшеница) на пластиковом поддоне.

Делали двойной набор таких стаканов для 2х разных буферов, а также для 5-ти проб каждого вида сырья.

Затем выполняли навески ферментов в зависимости от рекомендаций производителя. Навески ферментов представлены в таблице 11.

Таблица 11 - Навески ферментов, используемых для ферментативного гидролиза

| № п/п | Название мультиферментного препарата | Компания-производитель, страна происхождения | Навеска, мг |
|-------|--------------------------------------|----------------------------------------------|-------------|
| 1     | Контрольная группа без фермента      | -                                            | -           |
| 2     | Натугрейн                            | BASF SE,<br>Германия                         | 50          |
| 3     | Ровабио Эксель                       | Adisseo SAS,<br>Франция                      | 25          |
| 4     | Ронозим Мультигрейн                  | Novozymes A/S,<br>Дания                      | 50          |
| 5     | Акстра ХВ                            | Danisco Animal Nutrition<br>Великобритания   | 50          |
| 6     | Акстра ХАР                           | Danisco Animal Nutrition<br>Великобритания   | 50          |
| 7     | Хостазим Комби                       | Biovet AD,<br>Болгария                       | 50          |
| 8     | Вилзим                               | Enmex S.A. de C.V.,<br>Мексика               | 10          |
| 9     | ЭнзимКомплекс                        | ООО НПЦ<br>«Агросистема», РФ                 | 150         |

Для выполнения навесок использовали аналитические электронные весы VIBRAc минимальным взвешиванием 10 мг, точность – 0,1 мг (рисунок 11).



Рисунок 11 - Аналитические весы VIBRA 10 мг, d=0,1 мг

Затем, каждую навеску переносили в соответствующие маркированные стаканы.

После этого в каждый стакан, содержащий навеску пшеницы и навеску соответствующего фермента вносили буфер. В первый набор стаканов вносили буфер 4,01 до отметки 500 мл при постоянном помешивании. Для помешивания использовали индивидуальные стеклянные мешалки в каждый стакан. Также в одном из стаканов каждого набора помещали термометр для контроля температуры содержимого стакана. Во второй набор стаканов также вносили буфер 6,86 до метки 500 мл при постоянном помешивании (рисунок 12).



Рисунок 12 - Стаканы с навесками сырья и ферментами, залитые буферным раствором

Контрольные стаканы также заливали указанными буферами, но они не содержали навески ферментов.

После этого, контрольные и опытные стаканы (соответственно маркированные) помещали в подготовленную водяную баню с температурой воды 40<sup>0</sup>С и доводили до температуры содержимого в стаканах 39<sup>0</sup>С. Затем установку температуры на водяной бане устанавливали на уровне 39<sup>0</sup>С и оставляли стаканы на водяной бане на 1 час (рисунок 13). Содержимое в каждом стакане интенсивно размешивали каждые 15-20 минут. По истечении 1 часа брали из каждого стакана 10 мл аликвоты и переносили в пластиковые пробирки с крышками, а затем центрифугировали 10 минут при 3000 об/мин.



Рисунок 13 - Стаканы в водяной бане

После этого брали по 1 мл надосадочной жидкости из каждой пробирки и переносили в стеклянные пробирки (рисунок 14).



Рисунок 14 - Отбор жидкости после гидролиза в пластиковые пробирки

Содержимое этих пробирок использовали для определения оптической плотности сахаров при первоначальном рН 4,01 и 6,86.

Далее, для имитации перемещения химуса в разные отделы ЖКТ, мы меняли рН буферных растворов с 4,01 на 6,86 и 6,86 на 4,01. Для изменения рН с 4,01 на 6,86 использовали 0,1Н раствор едкого калия, а для изменения рН с 6,86 на 4,01 использовали 0,1Н раствор соляной кислоты. Для контроля изменения рН в буферных растворах применяли электронный рН-метр Seven Excellence Multiparameters (рисунок 15)



Рисунок 15 - Изменение рН гидролизованной смеси с 6,86 на 4,01 (стакан находится на магнитной мешалке)

При изменении рН с 6,86 на 4,01 применяли 0,1Н раствор HCl, приливали его пипеткой на 10 мл, осторожно, порциями под контролем рН-метра, до устойчивого изменения рН гидролизованной смеси, которое не меняется в течение как минимум 3 сек.

Для изменения рН с 4,01 на 6,86 применяли 0,1Р раствор КОН, также приливая его пипеткой на 10 мл, осторожно, порциями, под контролем рН-метра, до устойчивого изменения рН гидролизованной смеси, которое не меняется в течение как минимум 3 сек.

После изменения рН, стаканы снова помешали в водяную баню при температуре 40 градусов и еще инкубировали 1 час при периодическом помешивании (каждые 15-20 мин). После этого также отбирали аликвоту в пластиковые пробирки, которые центрифугировали 10 мин при 3000 об/мин.

Затем 1 мл супернатанта переносили в стеклянные пробирки в соответствии с маркировкой стаканов и пластиковых пробирок.

**Методика приготовления ДНС-реактива и методика определения простых сахаров, выделившихся в результате ферментативного гидролиза *in vitro***

Метод основан на определении редуцирующих (восстанавливающих) сахаров, образующихся при действии ферментов на гликозидные связи полисахаридов кормового сырья при определении в стандартных условиях. Сущность метода заключается в восстановлении 3,5-динитросалициловой кислоты (ДНС) до 3-амино-5-нитросалициловой кислоты, обладающей красно-оранжевой окраской, интенсивность которой определяли колориметрически при длине волны 540 нм.

Для приготовления ДНС-реактива используются следующие компоненты: 10 г динитросалициловой кислоты; 150 мл 9,7% раствора едкого натра (ЧДА); 300 г калий-натрий виннокислый 4х водный.

Растворяли динитросалициловую кислоту в 400 мл дистиллированной воды, мешая на магнитной мешалке 25-30 минут, затем добавляли 150 мл 9,7% раствора едкого натра и ставили на водяную баню с температурой 47-48<sup>0</sup>С и вносили порциями калий-натрий виннокислый до полного растворения.

Охлаждали до комнатной температуры, переливали в мерную колбу 1000 мл и доводили объем до метки дистиллированной водой. Реактив годен 6 мес при комнатной температуре в бутылке из темного стекла (или в темной месте).

Следующим этапом исследования было освоение методики определения оптической плотности сахаров, которые накопились в процессе гидролиза кормового сырья, указанного выше.

Для этого определения использовали надосадочную жидкость, которую получили после центрифугирования пластиковых пробирок.

Стеклянные пробирки, маркированные в соответствии с маркировкой стаканов и пластиковых пробирок, размещали в штативе и каждую пробу надсадочной жидкости разбавляли дистиллированной водой в 10 раз, приливая в каждую пробирку 9 мл дистиллированной воды. Это было необходимо для получения правильного значения коэффициента оптической плотности на спектрофотокалориметре, которое не должно быть более 2,000. Далее, в отдельные стеклянные пробирки переносили по 1 мл разбавленной надсадочной жидкости для первоначальных проб с буферными растворами и с измененными рН буферных растворов (рисунок 16).



Рисунок 16 - Спектрофотометр и заполненная кювета перед установкой в прибор

В каждую пробирку, содержащую по 1 мл разбавленной надсадочной жидкости приливали по 3 мл приготовленного заранее ДНС-реактива, тщательно размешивая (можно использовать мешалку для пробирок) и затем ставили эти пробирки в кипящую водяную баню на 5 минут (точно по секундомеру), затем вынимали, охлаждали в холодной воде до комнатной температуре и измеряли оптическую плотность в спектрофотокалориметре в кюветах толщиной 1 см при длине волны 540 нм против контрольного раствора ДНС-реактива с дистиллированной водой (рисунки 17 и 18).

В качестве контроля эффективности ферментов использовали навеску кормового сырья (пшеницы, ячменя, кукурузы, жмыха подсолнечного и их зерносмеси) без фермента, но также инкубированная на водяной бане при разных рН 4,01 и 6,86, а также с измененными в последствие рН с 4,01 на 6,86 и с 6,86 на 4,01.

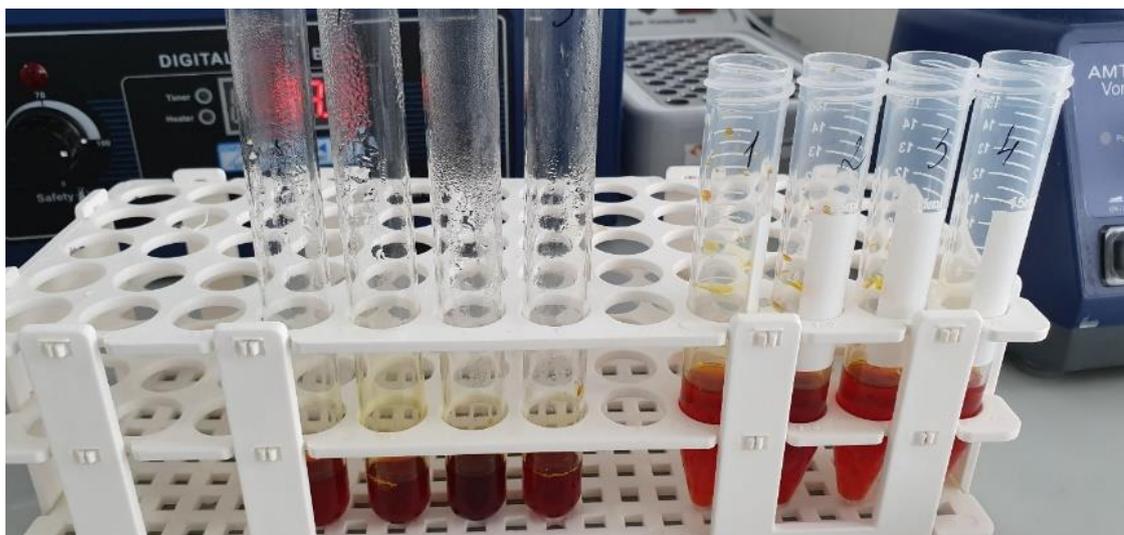


Рисунок 17 - Пробирки с окрашенным ДНС-реактивом содержащим



Рисунок 18 - Заполнение пробирок ДНС- реактивом

Надосадочные жидкости этих проб также центрифугировали 10 минут при 3000 об/мин, затем разбавляли в 10 раз и потом оценивались с ДНС реактивом, одновременно с пробами кормового сырья, которое инкубировалось на водяной бане с ферментными препаратами.

Результаты определения оптической плотности сахаров, выделившихся в результате ферментативного гидролиза исследуемых образцов зерна и зерносмеси приведены в таблицах 12-16 и рисунке 19.

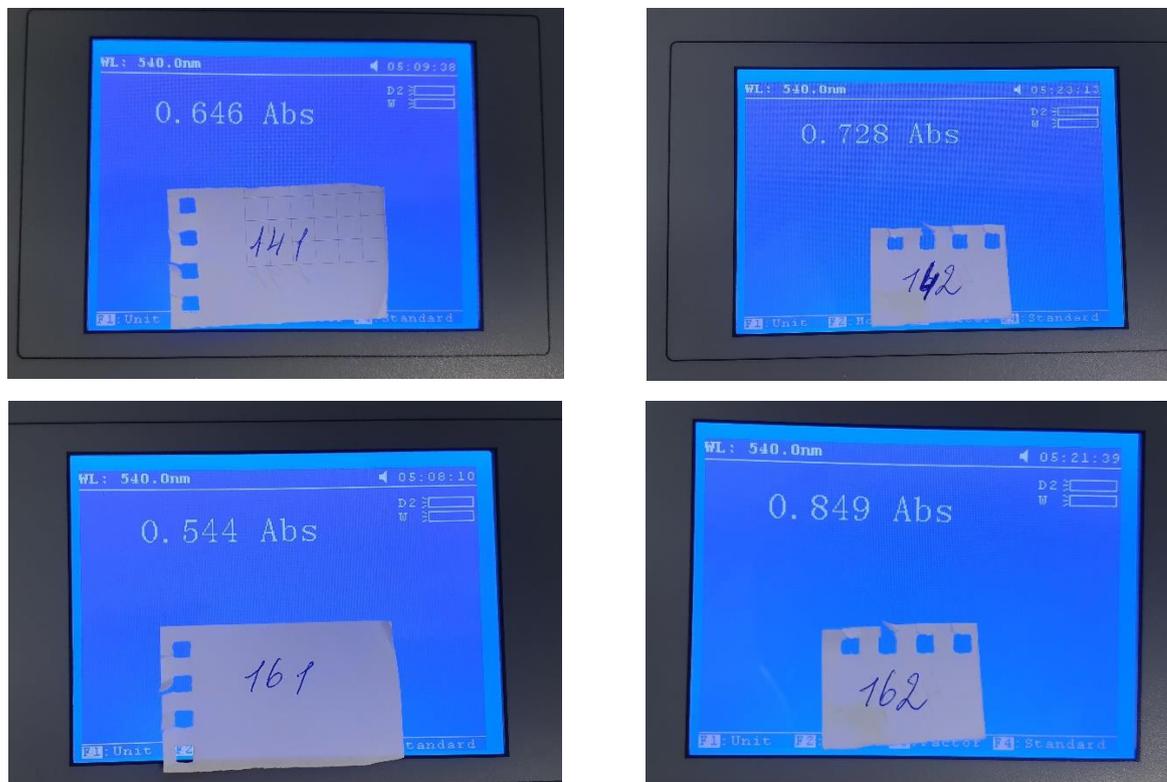


Рисунок 19 - Примеры индикации оптической плотности на спектрофотометре

Таблица 12 - Результаты определения оптической плотности сахаров, выделившихся в результате ферментативного гидролиза пшеницы

| Фермент             | Сырье            |       | Пшеница |       |        |       |        |                        |       |       |       |       |        |       |        |       |
|---------------------|------------------|-------|---------|-------|--------|-------|--------|------------------------|-------|-------|-------|-------|--------|-------|--------|-------|
|                     | контроль (сырье) |       |         |       |        |       |        | опыт (сырье + фермент) |       |       |       |       |        |       |        |       |
|                     | 1                | 2     | 3       | 4     | 1      | 2     | 3      | 4                      | 1     | 2     | 3     | 4     |        |       |        |       |
| Номера проб         |                  |       |         |       |        |       |        |                        |       |       |       |       |        |       |        |       |
| Описание проб с pH  | pH 6             | ./-.  | pH 4    | ./-.  | pH 6-4 | ./-.  | pH 4-6 | ./-.                   | pH 6  | ./-.  | pH 4  | ./-.  | pH 6-4 | ./-.  | pH 4-6 | ./-.  |
| Акстра ХАР          | 0,489            | 0,004 | 0,559   | 0,005 | 0,734  | 0,002 | 0,579  | 0,003                  | 1,033 | 0,005 | 1,021 | 0,005 | 1,120  | 0,002 | 0,956  | 0,009 |
| Акстра ХВ           | 0,489            | 0,004 | 0,559   | 0,005 | 0,734  | 0,002 | 0,579  | 0,003                  | 0,663 | 0,002 | 0,710 | 0,005 | 0,941  | 0,003 | 0,757  | 0,004 |
| Вилзим              | 0,489            | 0,004 | 0,559   | 0,005 | 0,734  | 0,002 | 0,579  | 0,003                  | 0,675 | 0,003 | 0,644 | 0,003 | 1,129  | 0,001 | 0,722  | 0,004 |
| Ровабио Эксель      | 0,489            | 0,004 | 0,559   | 0,005 | 0,734  | 0,002 | 0,579  | 0,003                  | 0,551 | 0,002 | 0,793 | 0,001 | 0,946  | 0,001 | 0,716  | 0,002 |
| Хостазим Комби      | 0,489            | 0,004 | 0,559   | 0,005 | 0,734  | 0,002 | 0,579  | 0,003                  | 0,577 | 0,004 | 0,596 | 0,003 | 0,906  | 0,003 | 0,659  | 0,004 |
| Ронозим Мультигрейн | 0,489            | 0,004 | 0,559   | 0,005 | 0,734  | 0,002 | 0,579  | 0,003                  | 0,692 | 0,002 | 0,674 | 0,003 | 1,018  | 0,001 | 0,715  | 0,002 |
| Энзим Комплекс      | 0,489            | 0,004 | 0,559   | 0,005 | 0,734  | 0,002 | 0,579  | 0,003                  | 0,999 | 0,002 | 0,776 | 0,003 | 1,164  | 0,052 | 0,768  | 0,005 |
| Натургрейн          | 0,489            | 0,004 | 0,559   | 0,005 | 0,734  | 0,002 | 0,579  | 0,003                  | 0,614 | 0,004 | 0,691 | 0,004 | 0,848  | 0,003 | 0,745  | 0,004 |

Таблица 13 - Результаты определения оптической плотности сахаров, выделившихся в результате ферментативного гидролиза ячменя

| Фермент \ Сырье     | Ячмень           |       |       |       |        |       |        |       |                        |       |       |       |        |       |        |       |
|---------------------|------------------|-------|-------|-------|--------|-------|--------|-------|------------------------|-------|-------|-------|--------|-------|--------|-------|
|                     | контроль (сырье) |       |       |       |        |       |        |       | опыт (сырье + фермент) |       |       |       |        |       |        |       |
|                     | 1                |       | 2     |       | 3      |       | 4      |       | 1                      |       | 2     |       | 3      |       | 4      |       |
| Номера проб         | рН 6             | ./-.  | рН 4  | ./-.  | рН 6-4 | ./-.  | рН 4-6 | ./-.  | рН 6                   | ./-.  | рН 4  | ./-.  | рН 6-4 | ./-.  | рН 4-6 | ./-.  |
| Описание проб       | рН 6             | ./-.  | рН 4  | ./-.  | рН 6-4 | ./-.  | рН 4-6 | ./-.  | рН 6                   | ./-.  | рН 4  | ./-.  | рН 6-4 | ./-.  | рН 4-6 | ./-.  |
| Акстра ХАР          | 0,498            | 0,006 | 0,449 | 0,008 | 0,704  | 0,003 | 0,518  | 0,004 | 1,412                  | 0,023 | 1,151 | 0,008 | 1,783  | 0,015 | 1,325  | 0,031 |
| Акстра ХВ           | 0,498            | 0,006 | 0,449 | 0,008 | 0,704  | 0,003 | 0,518  | 0,004 | 0,846                  | 0,010 | 1,033 | 0,005 | 1,232  | 0,014 | 1,043  | 0,018 |
| Вилзим              | 0,498            | 0,006 | 0,449 | 0,008 | 0,704  | 0,003 | 0,518  | 0,004 | 0,808                  | 0,004 | 0,836 | 0,006 | 1,006  | 0,004 | 0,880  | 0,008 |
| Ровабио Эксель      | 0,498            | 0,006 | 0,449 | 0,008 | 0,704  | 0,003 | 0,518  | 0,004 | 0,830                  | 0,005 | 1,021 | 0,008 | 1,260  | 0,011 | 0,999  | 0,002 |
| Хостазим Комби      | 0,498            | 0,006 | 0,449 | 0,008 | 0,704  | 0,003 | 0,518  | 0,004 | 0,603                  | 0,004 | 0,535 | 0,008 | 0,840  | 0,003 | 0,658  | 0,008 |
| Ронозим Мультигрейн | 0,498            | 0,006 | 0,449 | 0,008 | 0,704  | 0,003 | 0,518  | 0,004 | 0,703                  | 0,010 | 0,667 | 0,004 | 0,952  | 0,006 | 0,695  | 0,004 |
| Энзим Комплекс      | 0,498            | 0,006 | 0,449 | 0,008 | 0,704  | 0,003 | 0,518  | 0,004 | 0,719                  | 0,005 | 0,604 | 0,003 | 0,954  | 0,008 | 0,627  | 0,009 |
| Натургрейн          | 0,498            | 0,006 | 0,449 | 0,008 | 0,704  | 0,003 | 0,518  | 0,004 | 0,508                  | 0,010 | 0,611 | 0,005 | 0,781  | 0,006 | 0,667  | 0,010 |

Таблица 14 - Результаты определения оптической плотности сахаров, выделившихся в результате ферментативного гидролиза кукурузы

| Фермент \ Сырье     | Кукуруза         |       |       |       |        |       |        |       |                        |       |       |       |        |       |        |       |
|---------------------|------------------|-------|-------|-------|--------|-------|--------|-------|------------------------|-------|-------|-------|--------|-------|--------|-------|
|                     | контроль (сырье) |       |       |       |        |       |        |       | опыт (сырье + фермент) |       |       |       |        |       |        |       |
|                     | 1                |       | 2     |       | 3      |       | 4      |       | 1                      |       | 2     |       | 3      |       | 4      |       |
| Номера проб         | рН 6             | ./-.  | рН 4  | ./-.  | рН 6-4 | ./-.  | рН 4-6 | ./-.  | рН 6                   | ./-.  | рН 4  | ./-.  | рН 6-4 | ./-.  | рН 4-6 | ./-.  |
| Описание проб       | рН 6             | ./-.  | рН 4  | ./-.  | рН 6-4 | ./-.  | рН 4-6 | ./-.  | рН 6                   | ./-.  | рН 4  | ./-.  | рН 6-4 | ./-.  | рН 4-6 | ./-.  |
| Акстра ХАР          | 0,475            | 0,008 | 0,510 | 0,004 | 0,650  | 0,008 | 0,626  | 0,007 | 0,898                  | 0,006 | 0,830 | 0,005 | 1,249  | 0,027 | 0,957  | 0,003 |
| Акстра ХВ           | 0,475            | 0,008 | 0,510 | 0,004 | 0,650  | 0,008 | 0,626  | 0,007 | 0,479                  | 0,007 | 0,585 | 0,006 | 0,700  | 0,007 | 0,626  | 0,005 |
| Вилзим              | 0,475            | 0,008 | 0,510 | 0,004 | 0,650  | 0,008 | 0,626  | 0,007 | 0,589                  | 0,005 | 0,692 | 0,007 | 0,923  | 0,010 | 0,771  | 0,007 |
| Ровабио Эксель      | 0,475            | 0,008 | 0,510 | 0,004 | 0,650  | 0,008 | 0,626  | 0,007 | 0,483                  | 0,006 | 0,566 | 0,008 | 0,723  | 0,009 | 0,674  | 0,004 |
| Хостазим Комби      | 0,475            | 0,008 | 0,510 | 0,004 | 0,650  | 0,008 | 0,626  | 0,007 | 0,599                  | 0,006 | 0,697 | 0,007 | 0,908  | 0,008 | 0,781  | 0,005 |
| Ронозим Мультигрейн | 0,475            | 0,008 | 0,510 | 0,004 | 0,650  | 0,008 | 0,626  | 0,007 | 0,571                  | 0,006 | 0,694 | 0,006 | 0,894  | 0,006 | 0,876  | 0,005 |
| Энзим Комплекс      | 0,475            | 0,008 | 0,510 | 0,004 | 0,650  | 0,008 | 0,626  | 0,007 | 0,726                  | 0,006 | 0,683 | 0,005 | 1,000  | 0,006 | 0,767  | 0,008 |
| Натургрейн          | 0,475            | 0,008 | 0,510 | 0,004 | 0,650  | 0,008 | 0,626  | 0,007 | 0,624                  | 0,004 | 0,713 | 0,006 | 0,939  | 0,007 | 0,836  | 0,005 |

Таблица 15 - Результаты определения оптической плотности сахаров, выделившихся в результате ферментативного гидролиза подсолнечного ЖМЫХА

| Фермент \ Сырье     | Жмых подсолнечный |       |       |       |        |       |        |       |                        |       |       |       |        |       |        |       |
|---------------------|-------------------|-------|-------|-------|--------|-------|--------|-------|------------------------|-------|-------|-------|--------|-------|--------|-------|
|                     | контроль (сырье)  |       |       |       |        |       |        |       | опыт (сырье + фермент) |       |       |       |        |       |        |       |
|                     | 1                 |       | 2     |       | 3      |       | 4      |       | 1                      |       | 2     |       | 3      |       | 4      |       |
| Номера проб         | рН 6              | ./-.  | рН 4  | ./-.  | рН 6-4 | ./-.  | рН 4-6 | ./-.  | рН 6                   | ./-.  | рН 4  | ./-.  | рН 6-4 | ./-.  | рН 4-6 | ./-.  |
| Описание проб       | рН 6              | ./-.  | рН 4  | ./-.  | рН 6-4 | ./-.  | рН 4-6 | ./-.  | рН 6                   | ./-.  | рН 4  | ./-.  | рН 6-4 | ./-.  | рН 4-6 | ./-.  |
| Акстра ХАР          | 0,460             | 0,003 | 0,476 | 0,004 | 0,533  | 0,002 | 0,589  | 0,003 | 0,573                  | 0,001 | 0,553 | 0,001 | 0,614  | 0,002 | 0,686  | 0,004 |
| Акстра ХВ           | 0,460             | 0,003 | 0,476 | 0,004 | 0,533  | 0,002 | 0,589  | 0,003 | 0,528                  | 0,001 | 0,526 | 0,004 | 0,537  | 0,004 | 0,626  | 0,005 |
| Вилзим              | 0,460             | 0,003 | 0,476 | 0,004 | 0,533  | 0,002 | 0,589  | 0,003 | 0,548                  | 0,002 | 0,468 | 0,002 | 0,602  | 0,002 | 0,527  | 0,002 |
| Ровабио Эксель      | 0,460             | 0,003 | 0,476 | 0,004 | 0,533  | 0,002 | 0,589  | 0,003 | 0,545                  | 0,003 | 0,547 | 0,003 | 0,561  | 0,001 | 0,621  | 0,002 |
| Хостазим Комби      | 0,460             | 0,003 | 0,476 | 0,004 | 0,533  | 0,002 | 0,589  | 0,003 | 0,418                  | 0,002 | 0,480 | 0,002 | 0,405  | 0,002 | 0,565  | 0,003 |
| Ронозим Мультигрейн | 0,460             | 0,003 | 0,476 | 0,004 | 0,533  | 0,002 | 0,589  | 0,003 | 0,505                  | 0,003 | 0,460 | 0,002 | 0,521  | 0,002 | 0,513  | 0,002 |
| Энзим Комплекс      | 0,460             | 0,003 | 0,476 | 0,004 | 0,533  | 0,002 | 0,589  | 0,003 | 0,511                  | 0,002 | 0,430 | 0,002 | 0,504  | 0,004 | 0,491  | 0,001 |
| Натургрейн          | 0,460             | 0,003 | 0,476 | 0,004 | 0,533  | 0,002 | 0,589  | 0,003 | 0,478                  | 0,002 | 0,443 | 0,002 | 0,467  | 0,004 | 0,479  | 0,002 |

Таблица 16 - Результаты определения оптической плотности сахаров, выделившихся в результате ферментативного гидролиза зерносмеси

| Фермент             | Сырье            |       | Зерносмесь |       |        |       |        |                        |       |       |       |       |        |       |        |       |  |   |
|---------------------|------------------|-------|------------|-------|--------|-------|--------|------------------------|-------|-------|-------|-------|--------|-------|--------|-------|--|---|
|                     | контроль (сырье) |       |            |       |        |       |        | опыт (сырье + фермент) |       |       |       |       |        |       |        |       |  |   |
|                     | 1                |       | 2          |       | 3      |       |        | 4                      |       |       | 1     |       | 2      |       | 3      |       |  | 4 |
| Номера проб         | рН 6             | ./-   | рН 4       | ./-   | рН 6-4 | ./-   | рН 4-6 | ./-                    | рН 6  | ./-   | рН 4  | ./-   | рН 6-4 | ./-   | рН 4-6 | ./-   |  |   |
| Акстра ХАР          | 0,465            | 0,003 | 0,497      | 0,002 | 0,765  | 0,002 | 0,644  | 0,002                  | 0,897 | 0,002 | 0,652 | 0,002 | 1,261  | 0,008 | 0,911  | 0,003 |  |   |
| Акстра ХВ           | 0,465            | 0,003 | 0,497      | 0,002 | 0,765  | 0,002 | 0,644  | 0,002                  | 0,613 | 0,002 | 0,637 | 0,008 | 1,038  | 0,003 | 0,804  | 0,003 |  |   |
| Вилзим              | 0,465            | 0,003 | 0,497      | 0,002 | 0,765  | 0,002 | 0,644  | 0,002                  | 0,621 | 0,002 | 0,731 | 0,002 | 0,982  | 0,002 | 0,848  | 0,003 |  |   |
| Ровабио Эксель      | 0,465            | 0,003 | 0,497      | 0,002 | 0,765  | 0,002 | 0,644  | 0,002                  | 0,582 | 0,002 | 0,802 | 0,002 | 0,949  | 0,002 | 0,885  | 0,004 |  |   |
| Хостазим Комби      | 0,465            | 0,003 | 0,497      | 0,002 | 0,765  | 0,002 | 0,644  | 0,002                  | 0,536 | 0,004 | 0,672 | 0,002 | 0,877  | 0,003 | 0,718  | 0,003 |  |   |
| Ронозим Мультигрейн | 0,465            | 0,003 | 0,497      | 0,002 | 0,765  | 0,002 | 0,644  | 0,002                  | 0,637 | 0,002 | 0,676 | 0,003 | 0,911  | 0,087 | 0,804  | 0,002 |  |   |
| Энзим Комплекс      | 0,465            | 0,003 | 0,497      | 0,002 | 0,765  | 0,002 | 0,644  | 0,002                  | 0,712 | 0,002 | 0,615 | 0,002 | 1,066  | 0,015 | 0,745  | 0,004 |  |   |
| Натургрейн          | 0,465            | 0,003 | 0,497      | 0,002 | 0,765  | 0,002 | 0,644  | 0,002                  | 0,538 | 0,003 | 0,609 | 0,002 | 0,881  | 0,002 | 0,763  | 0,003 |  |   |

### **Введение понятия «эффективность» кормовых ферментов и разработка методики ее определения по полученным результатам *in vitro***

Согласно рабочей гипотезе и полученным результатам исследований, было принято решение о введении понятия «эффективность *in vitro*» кормового фермента – это способность фермента сделать работу по разрушению субстрата с высвобождением моносахарида(ов) в «полевых» условиях «*in vitro*».

Определенная таким образом эффективность может предсказать работу (результат) того или иного ферментного (или комплексного) препарата в конкретных условиях на конкретном сырье и/или структуре комбикорма до того, как этот ферментный препарат будет использоваться в кормлении. Определить эффективность можно путем проведения кормовых тестов по увеличению питательности кормового сырья под действием ферментов в нашей модификации, как описано выше и используя полученные нами данные определить так называемую «эффективность» [47].

Нашей целью была разработка и валидация методики измерения «эффективности-*in vitro*» различных коммерческих продуктов кормовых ферментов в нашей модификации как было описано выше.

Эффективность определялась по приросту количества выделенных сахаров под действием разных мультиэнзимных продуктов к контролю, выраженное в %. Контроль был принят за 100%. Из зерновых, применяемых в кормлении мы использовали пшеницу, ячмень, кукурузу (все зерно было предыдущего урожая года более 6 мес. хранения) и смесь, состоящую из пшеницы – 35%, ячменя – 20%, кукурузы – 30%, жмых подсолнечный – 15%.

Разработанная методика определения эффективности складывалась из сравнения количества выделенных редуцирующих сахаров, определенных с помощью спектрофотометра при длине волны 540 нм, в контрольном сырье, которое не было ферментировано, с опытными образцами кормового сырья, которые были подвергнуты ферментативному гидролизу как описано выше в этой работе, чье количество сахаров было также определено спектрофотометрически с ДНС-реактивом.

Показатели оптической плотности выделившихся сахаров в опытных пробах при рН 4,01, 6,86, а также после изменения рН с 4,01 на 6,86 и с 6,86 на 4,01 и сравненных с контрольной пробой при этих же величинах рН и рассчитанных по формуле и будет являться показателем эффективности работы ферментов, выраженным в %, взятых в этой работе.

Предложенная формула определения «эффективности» работы ферментов:

$$\text{Эф} = \left( \frac{(\text{Оп}2-4) + (\text{Оп}2-6) + (\text{Оп}2-46) + (\text{Оп}2-64)}{(\text{Оп}1-4) + (\text{Оп}1-6) + (\text{Оп}1-46) + (\text{Оп}1-64)} \times 100\% \right) - 100;$$

где: Эф – эффективность кормового фермента, %;

Оп2-4 – оптическая плотность опытного сырья (ОПОС) при рН 4,01;

Оп2-6 – ОПОС при рН 6,86;

Оп2-46 – ОПОС при смене рН с 4,01 на 6,86;

Оп2-64 – ОПОС при смене рН с 6,86 на 4,01

Оп1-4 – оптическая плотность контрольного сырья (ОПКС) при рН 4,01;

Оп1-6 – ОПКС при рН 6,86;

Оп1-46 – ОПКС при смене рН с 4,01 на 6,86;

Оп1-64 – ОПКС при смене рН с 6,86 на 4,01

Например, расчет эффективности работы Акстры ХВ при ферментативном гидролизе зерносмеси:

$$\text{Эф} = \left( \frac{0,613+0,637+1,038+0,804}{0,465+0,497+0,765+0,644} \times 100\% \right) - 100 = 30,4\%$$

Это означает, что эффективность ферментативного гидролиза Акстры ХВ составляет на 30,4% больше, чем в контрольном испытании без ферментов.

Таким образом, при расчете эффективности *in vitro* разных ферментов при рН 4,01 и 6,86, а также при смене рН с 4,01 на 6,86 и с 6,86 на 4,01 были выявлены следующие результаты (рисунок 20).

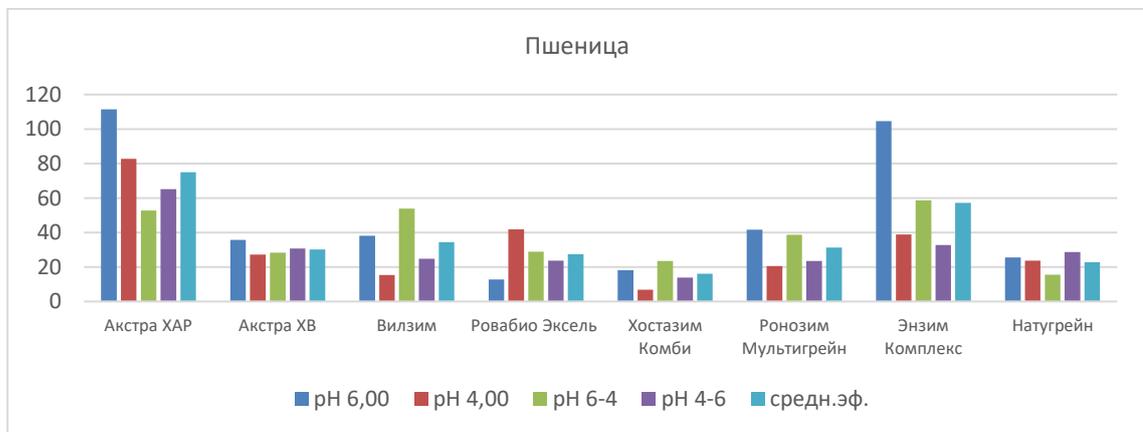


Рисунок 20 - Эффективность ферментов на пшенице при разных рН буферов и в среднем, %

На представленном рисунке видно, что наилучшую эффективность на пшенице при рН 6,86 показывает Акстра ХАР – 110% и ЭнзимКомплекс – 102%, а при рН 4,01, эффективность Акстры ХАР составляет 80%, а у ЭнзимКомплекса – 40%, что говорит о том, что эти ферментные комплексы лучше работают в нейтральной среде, т.е. в двенадцатиперстной и тощей кишке. Таковую же закономерность (эффективность при рН 6,86 выше, чем при рН 4,01) показывают и ряд других ферментов: Акстра ХВ, Вилзим, Ронозим, а также Хостазим Комби, хотя в небольшой степени. Натугрейн показывает примерно одинаковую эффективность при обоих показателях рН. Ровабио Эксель же, напротив, показывает лучшую эффективность при рН 4,01, чем при рН 6,86, это говорит о том, что его рН оптимум сдвинут в кислую сторону и

этот фермент лучше работает в кислой среде железистого и мышечного желудков. Обе Акстры (ХАР и ХВ), а также Натугрейн показали лучшую эффективность при смене рН с 4,01 на 6,86, что лишний раз доказывает, что их рН оптимум находится в пределах нейтральных значений, а остальные ферменты показали бóльшую эффективность при смене рН с 6,86 на 4,01, т.е. их эффективность в отношении пшеницы лежит в кислых значениях рН среды.

При оценке среднего значения эффективности на пшенице надо отметить, что ферменты по эффективности расположились в следующем ранжированном порядке: Акстра ХАР – 75%, ЭнзимКомплекс – 57%, Вилзим – 34%, Ронозим – 31%, Акстра ХВ – 30%, Ровабио – 27%, Натугрейн – 23% и Хостазим Комби – 16% (рисунок 21).

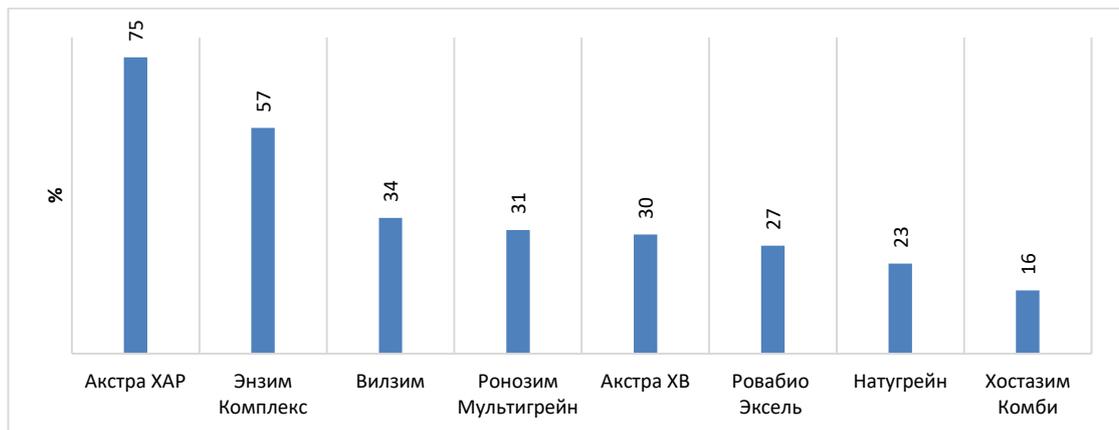


Рисунок 21 - Средняя эффективность ферментов в порядке убывания на пшенице, %

На рисунке 22 видно, что наибольшую эффективность на ячмене показал фермент Акстра ХАР как при рН 6,86 – 181%, так и при рН 4,01 – 156%, при этом остальные ферменты показали результат значительно ниже как при рН 6,86, так и при рН 4,01. Это свидетельствует о том, что энзимный состав Акстра ХАР имел большее сродство к субстратам ячменя, чем остальные ферментные препараты. Акстра ХВ – 130%, Вилзим – 86%, Ровабио Эксель – 127%, Натугрейн – 36% показали лучшую эффективность на ячмене при рН 4,01, в то время как Ронозим, ЭнзимКомплекс и Хостазим Комби показали практически одинаковую эффективность в нейтральной и в кислой рН среды

к НКП ячменя: Ронозим – 41 и 48% соответственно, ЭнзимКомплекс – 44 и 34%, Хостазим Комби – 21 и 19%.

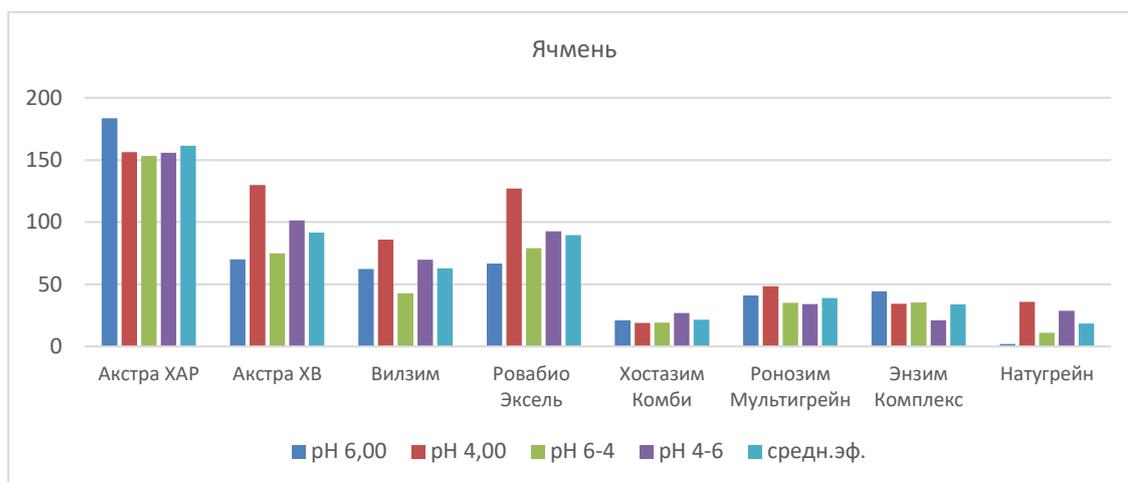


Рисунок 22- Эффективность ферментов на ячмене при разных pH буферов и в среднем, %

При оценке среднего значения эффективности на ячмене надо отметить, что ферменты по эффективности расположились в следующем порядке: Акстра ХАР – 161%, Акстра ХВ – 92%, Ровабио Эксель – 89%, Вилзим – 63%, Ронозим – 39%, ЭнзимКомплекс – 34%, Хостазим Комби – 21%, Натугрейн – 18% (рисунок 23).

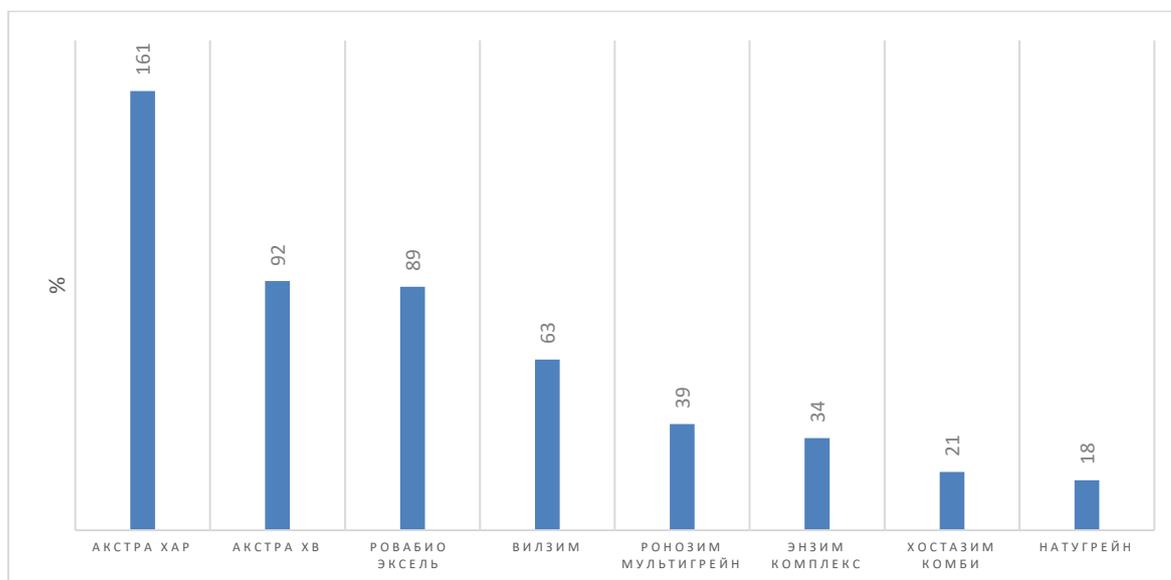


Рисунок 23 - Средняя эффективность ферментов в порядке убывания на ячмене, %

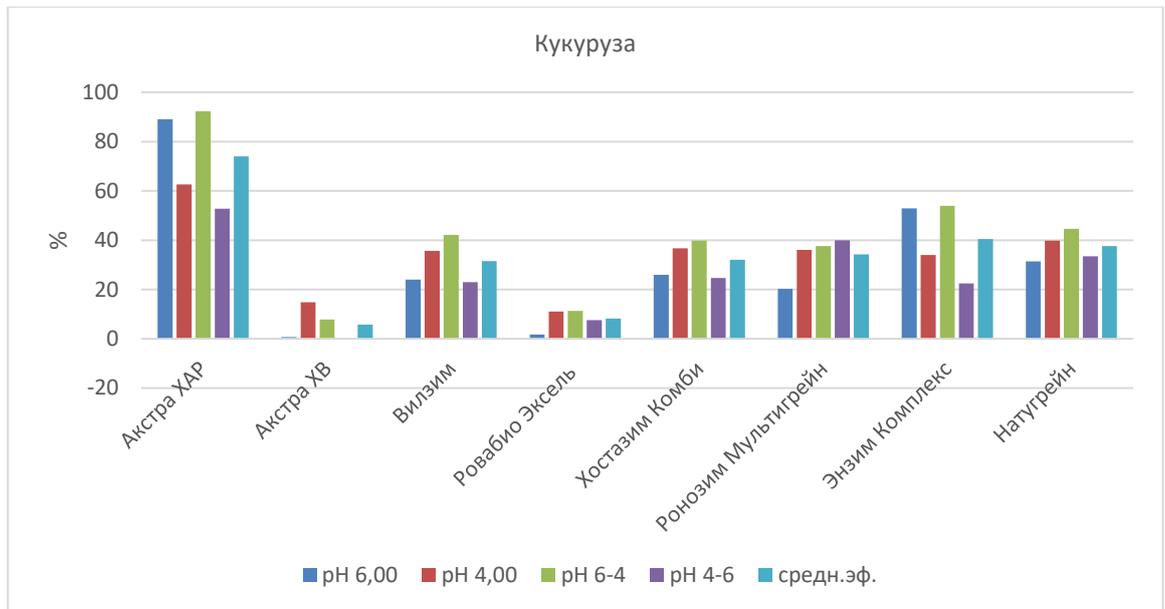


Рисунок 24 - Эффективность ферментов на кукурузе при разных pH буферов и в среднем, %

На рисунке 24 видно, что картина эффективности ферментов на кукурузе кардинально отличается от двух предыдущих видов сырья. В частности, наилучшую эффективность опять показывают амилазосодержащие ферменты при pH 6,86: Акстра ХАР – 89% и ЭнзимКомплекс – 53%, при этом остальные ферменты при pH 6,86 показали эффективность значительно ниже: Натугрейн – 31%, Хостазим Комби – 26%, Вилзим – 24%, Ронозим – 20%, а Ровабио Эксель и Акстра ХВ показали практически нулевую эффективность. В то же время, интересным фактом является то, что почти все ферменты, кроме амилазосодержащих, показали большую эффективность при pH 4,01, чем при pH 6,86: Натугрейн – 40%, Хостазим Комби – 37%, Вилзим – 36%, Ронозим – 36%, Акстра ХВ – 15%, а Ровабио Эксель – 11%. При этом, при смене pH с 6,86 на 4,01 практически все ферменты показали прирост эффективности по сравнению к контрольной пробе: Акстра ХАР – 92%, ЭнзимКомплекс – 54%, Натугрейн – 45%, Вилзим - 42%, Хостазим Комби – 40%, Ронозим – 38%. При смене pH с 4,01 на 6,86 практически все ферменты показали низкую эффективность по сравнению с контрольной пробой. Это, вероятно, объясняется тем, что в кислой среде происходит естественный гидролиз

крахмала, что увеличивает содержание простых сахаров естественным путем, и не увеличивается при воздействии ферментов.

При оценке среднего значения эффективности на кукурузе надо отметить, что ферменты по эффективности расположились в следующем порядке: Акстра ХАР – 74%, ЭнзимКомплекс – 40%, Натугрейн – 38%, Ронозим – 34%, Хостазим Комби – 32%, Вилзим – 32%, Ровабио Эксель – 8%, Акстра ХВ – 6%, (рисунок 25).

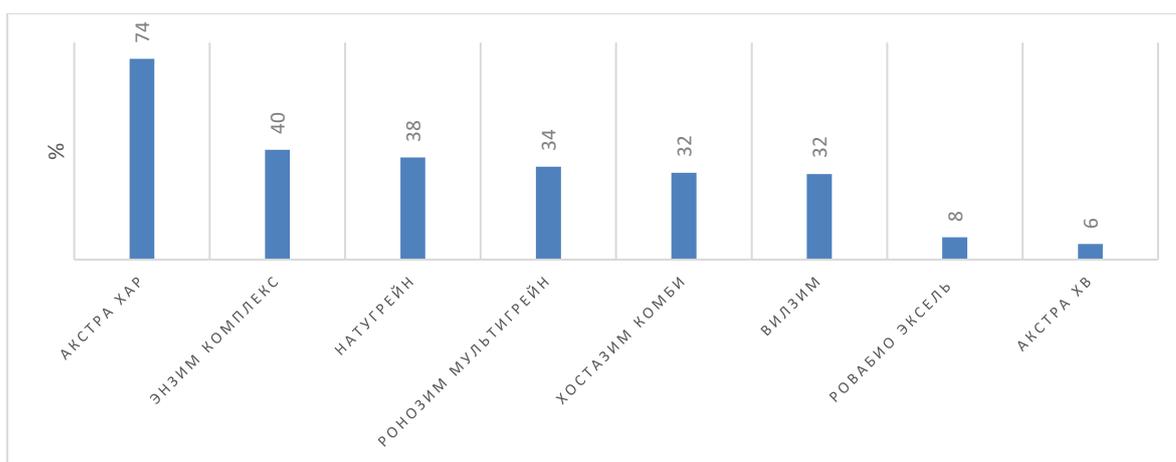


Рисунок 25 - Средняя эффективность ферментов в порядке убывания на кукурузе, %

Наименьшую эффективность показали Ровабио Эксель – 8% и Акстра ХВ – 6%, вероятно, из-за того, что кукуруза содержит очень мало субстратов для этих ферментов. Остальные ферменты, видимо, содержат амилазную активность в виде сопутствующих или побочных энзимов.



Рисунок 26 - Эффективность ферментов на подсолнечном жмыхе при разных pH буферов и в среднем, %

Результаты эффективности ферментов на подсолнечном жмыхе, представленные на выше размещенном рисунке 26 показывают весьма интересные тенденции, связанные с особенностями некрахмалистых и прочих субстратов в подсолнечном жмыхе, на которые действие представленных в этой работе ферментов оказалось значительно менее эффективно по сравнению с зерновым сырьем. Так, максимальная эффективность наиболее эффективного препарата Акстры ХАР составила 25% при рН 6,86 и 15% при рН 4,01, а такие ферменты, как Хостазим Комби и Натугрейн показали практически нулевую активность при всех показателях рН. Акстра ХВ показал эффективность 15% при рН 6,86 и 10% при рН 4,01; Вилзим – 19% при рН 6,86 и 2% при рН 4,01; Ровабио Эксель показал 15% и 10% соответственно. Ронозим и ЭнзимКомплекс показали эффективность только при рН 6,86 – 10 и 11% соответственно.

При оценке среднего значения эффективности на подсолнечном жмыхе надо отметить, что ферменты по эффективности расположились в следующем порядке: Акстра ХАР – 18%, Ровабио Эксель – 11%, Вилзим – 8%, Акстра ХВ – 8%, ЭнзимКомплекс – 3%, Ронозим – 3%, Натугрейн – 1%, Хостазим Комби – 1% (рисунок 27).

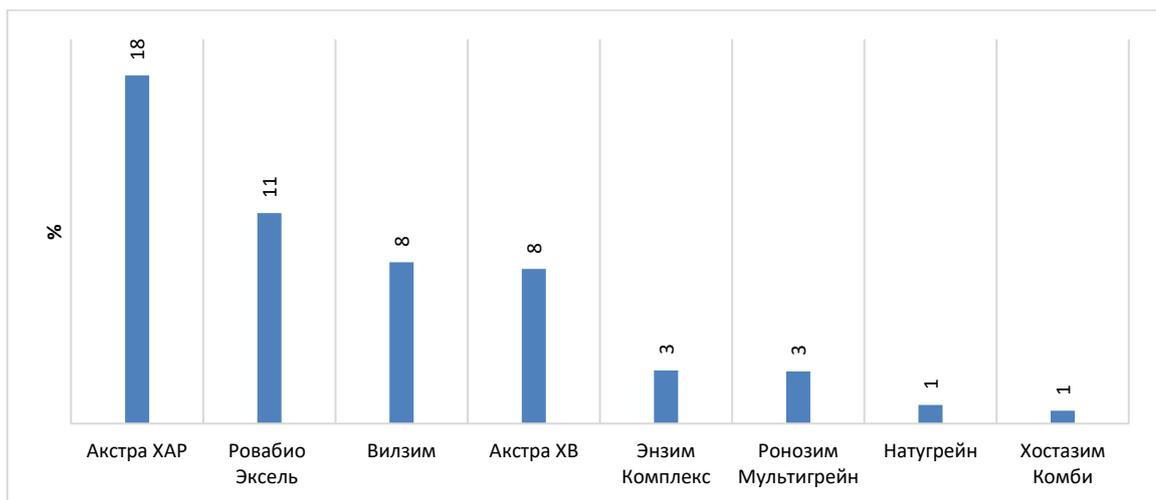


Рисунок 27 - Средняя эффективность ферментов в порядке убывания на подсолнечном жмыхе, %

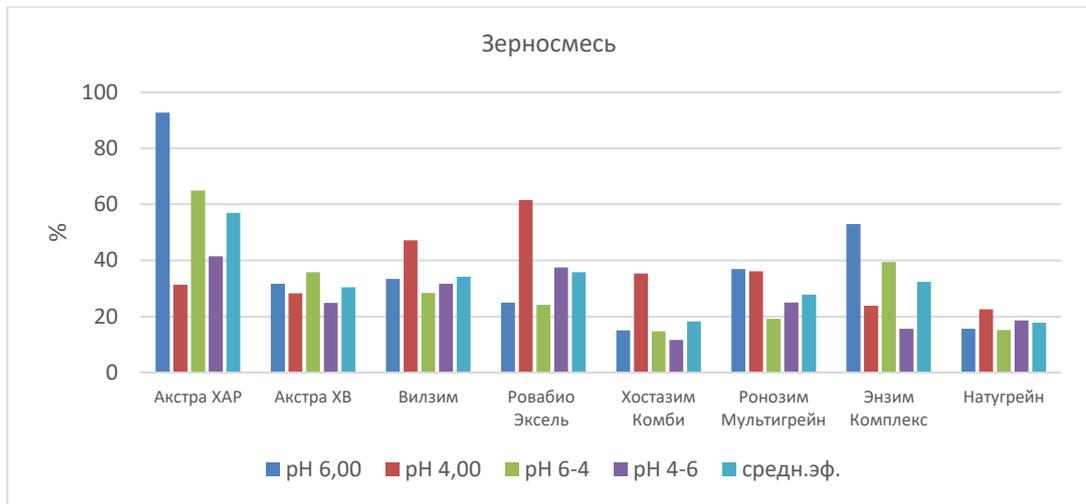


Рисунок 28 - Эффективность ферментов на зерносмеси при разных рН буферов и в среднем, %

На представленном рисунке 28 можно увидеть, что эффективность представленных ферментных препаратов представило собой какое-то предположительно среднее значение от всех предыдущих результатов на отдельном кормовом сырье. Смесь кормовых ингредиентов, которые участвовали в исследовании, структурно представляла собой примерный рецепт комбикорма для птицы, в которой были все крахмалистые и некрахмалистые полисахариды, а также ингибиторы ряда ферментов и другие антипитательные факторы. Так, Акстра ХАР и ЭнзимКомплекс опять показали максимальную эффективность при рН 6,86 – 93% и 53% соответственно, при этом их же эффективность при рН 4,01 составила всего 31% и 24% соответственно. Акстра ХВ и Ронозим Мультигрейн показали примерно одинаковую эффективность и при рН 6,86 и при рН 4,01 – 32% и 28% соответственно у Акстры ХВ и 37% и 36% у Ронозима. Напротив, Ровабио Эксель, Вилзим, Хостазим Комби и Натугрейн, показали лучшую эффективность при рН 4,01. Например, Ровабио Эксель – 62%, Вилзим – 47%, Хостазим Комби – 35%, Натугрейн – 23%. При смене рН тенденция осталась схожая с работой ферментов с пшеницей – ферменты, показавшие лучшие результаты в нейтральной среде, также при смене рН с 4,01 на 6,86 показывали результат лучше предыдущего, а при смене с 6,86 на 4,01 существенных изменений не наблюдалось.

При оценке среднего значения эффективности на зерносмеси надо отметить, что ферменты по эффективности расположились в следующем порядке: Акстра ХАР – 57%, Ровабио Эксель – 36%, Вилзим – 34%, ЭнзимКомплекс – 32%, Акстра ХВ – 30%, Ронозим – 28%, Хостазим Комби – 18%, Натугрейн – 18%, (рисунок 29).

Следует отметить, что результат определения эффективности ферментов на зерносмеси наиболее приближает к возможности предположения эффективности работы ферментов в комбикорме, поэтому эти результаты имеют большую практическую ценность и позволят с большой долей вероятности подбирать наиболее эффективную мультиэнзимную композицию.

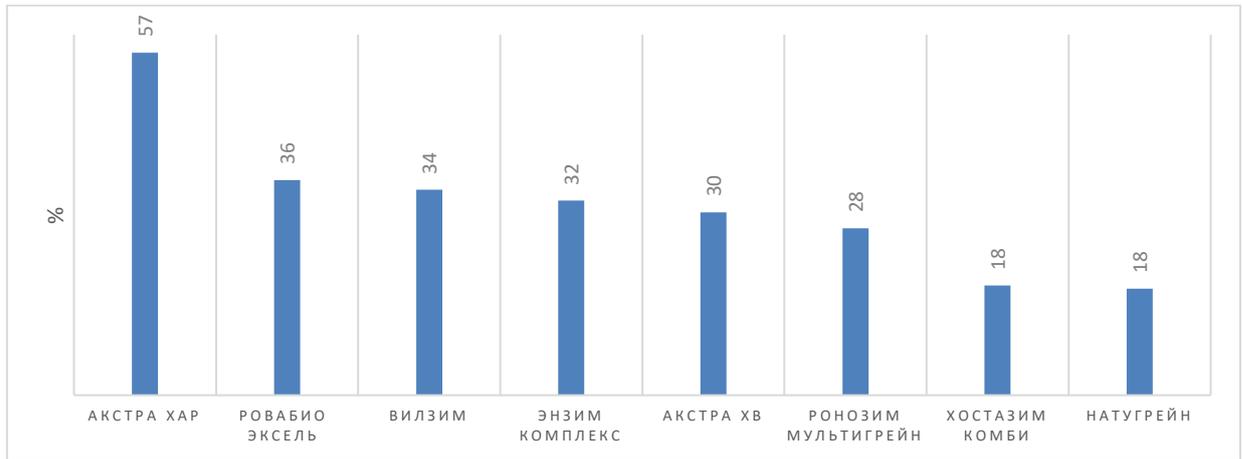


Рисунок 29 - Средняя эффективность ферментов в порядке убывания на зерносмеси, %

Эффективность работы ферментов в среднем с учетом разного кормового сырья представлена в таблицах 17 и 18.

Таблица 17 - Эффективность работы ферментов, %

| Фермент \ Сырье     | Пшеница          |     | Ячмень           |     | Кукуруза         |     | Подсолнечный     |     | Зерносмесь       |     |
|---------------------|------------------|-----|------------------|-----|------------------|-----|------------------|-----|------------------|-----|
|                     | Эффективность, % | ±   |
| Акстра ХАР          | 75,0             | 0,6 | 161,4            | 2,7 | 74,0             | 3,5 | 17,9             | 0,5 | 57,0             | 0,4 |
| Акстра ХВ           | 30,2             | 0,9 | 91,5             | 2,2 | 5,7              | 1,9 | 7,7              | 0,5 | 30,4             | 0,5 |
| Вилзим              | 34,4             | 0,7 | 62,7             | 1,1 | 31,6             | 1,7 | 4,2              | 0,5 | 34,2             | 0,2 |
| Ровабио Эксель      | 27,3             | 0,7 | 89,4             | 1,3 | 8,2              | 1,3 | 10,4             | 0,3 | 35,8             | 0,2 |
| Хостазим Комби      | 16,1             | 0,6 | 21,4             | 1,7 | 32,0             | 2,0 | 9,2              | 0,6 | 18,3             | 0,2 |
| Ронозим Мультигрейн | 31,3             | 0,7 | 39,1             | 1,3 | 34,2             | 2,0 | 2,8              | 0,3 | 27,8             | 3,7 |
| Энзим Комплекс      | 57,1             | 2,3 | 33,8             | 1,2 | 40,5             | 1,8 | 6,0              | 0,6 | 32,4             | 0,5 |
| Натугрейн           | 22,8             | 0,9 | 18,3             | 1,7 | 37,7             | 1,9 | 7,9              | 0,4 | 17,7             | 0,2 |

Как видно из представленной таблицы, наиболее эффективной ферментной композицией в условиях эксперимента явилась Акстра ХАР, эффективность которой составила 75% на пшенице, 161% на ячмене, 74% на кукурузе, 18% на подсолнечном жмыхе и 57% на зерносмеси, а в среднем – 77% к контрольным пробам с этим же сырьем.

Таблица 18 - Средняя эффективность ферментов с разным кормовым сырьем,  
%

| Кормовой фермент    | %    |
|---------------------|------|
| Акстра ХАР          | 77,1 |
| Ровабио Эксель      | 34,2 |
| Энзим Комплекс      | 34,0 |
| Вилзим              | 33,4 |
| Акстра ХВ           | 33,1 |
| Ронозим Мультигрейн | 27,0 |
| Натугрейн           | 20,9 |
| Хостазим Комби      | 19,4 |

Высокую эффективность Акстры ХАР по сравнению с остальными ферментами можно объяснить несколькими факторами. Во-первых, в состав ферментативных активностей входит альфа-амилаза, а во-вторых, ферментный состав Акстры ХАР в целом проявляет свою активность именно при рН в пределах 4,0 – 7,0 и при температуре 39 - 40°C.

Следующие два по эффективности продукты – Ровабио Эксель, который показал 27% на пшенице, 89% на ячмене, 8,2% на кукурузе, 10% на подсолнечном жмыхе и 36% на зерносмеси, и Энзимкомплекс, который показал 57% на пшенице, 34% на ячмене, 40% на кукурузе, 6% на подсолнечном жмыхе и 32% на зерносмеси.

Следующие три продукта: Вилзим, Акстра ХВ и Ронозим показали в среднем эффективность от 27 до 33%, при этом Вилзим показал эффективность 34% на пшенице, 63% на ячмене, 32% на кукурузе, 4,2% на подсолнечном жмыхе и 34% на зерносмеси; Акстра ХВ показал эффективность 30% на пшенице, 92% на ячмене, 6% на кукурузе, 8% на подсолнечном шроте и 30% на зерносмеси; Ронозим Мультигрейн показал

эффективность 31% на пшенице, 39% на ячмене, 34% на кукурузе, 3% на подсолнечном жмыхе и 27% на зерносмеси.

Натугрейн и Хостазим Комби показали примерно 20% средней эффективности и в частности, Натугрейн показал эффективность 23% на пшенице, 18% на ячмене, 38% на кукурузе, 8% на подсолнечном жмыхе и 18% на зерносмеси; Хостазим Комби показал эффективность 16% на пшенице, 21% на ячмене, 32% на кукурузе, 9% на подсолнечном жмыхе и 18% на зерносмеси.

Наглядно эффективность работы ферментов показана на рисунке 30.



Рисунок 30 - Эффективность работы ферментов с разным кормовым сырьем, %

Таким образом, возможное введение понятия «эффективность *in vitro*» должно определять способность фермента высвобождать максимально возможное количество простых редуцирующих и не редуцирующих сахаров в условиях  $\text{pH } 4 \pm 0,1$  и  $6,86 \pm 0,1$  при температуре  $39 \pm 1^\circ\text{C}$  со сложным кормовым сырьем: зерно, зернопродукты, жмыхи и шроты, зерносмеси и комбикорма, при чем в качестве контроля необходимо использовать тоже сырье, но без обработки ферментами.

### Различное трактование понятий активности ферментов и их эффективности в практике кормления

Известно, что активность ферментов выражается в единицах активности, которая показывает количество фермента, необходимое для высвобождения 1 ммоль моносахарида за 1 мин ( $\mu\text{mol} \times \text{min}^{-1}$ ) [106]. Этот

показатель применим для определения качества фермента при производстве, определении стабильности при хранении, после грануляции и других агрессивных воздействиях на корм.

В системе СИ активность ферментов (как катализаторов химических реакций) выражается в каталах и понимается как количество фермента, который катализирует превращение 1 моль субстрата за 1 сек. Катал выражает особенность «размера» молекулы фермента не охваченными другими единицами. Что касается того, почему измерение количества ферментов в каталах по сравнению с молями или граммами, аргумент аналогичен тому, почему существуют отдельные единицы для массы (например, грамм) и числа (моль). Однако, использование катала в прикладной энзимологии менее популярно, чем классические подходы в настоящее время. Также используется способ расчета удельной ферментативной активности, характеризующего ферментативную активность по точечному принципу (измерение до и после некоторого временного интервала) [6, 17].

В Российской Федерации приняты несколько государственных стандартов по определению активности ксиланазы, глюканазы, целлюлазы и амилазы. ГОСТы разработаны для разных отраслей промышленности, в частности, есть ГОСТы для ксиланазы и целлюлазы для целлюлозно-бумажной и спиртовой промышленности, а также для пищевой промышленности. Также разработаны ГОСТы с участием ВГНКИ и НПО «Лекбиотех» для определения активности ферментов в животноводстве при производстве комбикормов.

Сегодня не существует единого стандартного метода для определения активности ферментов, разрушающих НКП. Каждый производитель НКП-ферментов использует свой собственный подход, а также свои собственные условия анализа (рН, температуру, субстрат и т.д.). Поэтому каждый производитель даёт своё собственное понятие единицы активности НКП-ферментов [87].

Уровень активности ферментных препаратов является наиболее важным критерием, определяющим их жизнеспособность. Исходя из величины ферментативной активности (или соотношения разных активностей), осуществляется подбор препарата и его дозировка. Методики определения активности в разных исследовательских лабораториях, компаниях, странах существенно отличаются друг от друга [1]. В настоящее время на рынке большое количество как зарубежных, так и отечественных кормовых ферментных препаратов для разрушения НКП. Они представляют собой продукты, полученные с помощью биосинтетических процессов, осуществляемых различными микроорганизмами, которые синтезируют внеклеточные ферментные комплексы или индивидуальные ферменты. Комплексные мультиферментные препараты обуславливают универсальность их действия на различные виды НКП и рационов [40, 55, 181].

Наличие большого разнообразия единиц активности ферментов, которые применяют разные производители, обусловлен прежде всего тем, что каждому производителю удобно применять «свою» единицу активности для стандартизации своих ферментов при производстве. Очевидно, что прямым способом определения активности («активности по применению») является испытание «*in vivo*», то есть непосредственно при кормлении животных, однако, это не всегда возможно, особенно на стадии разработки и изготовления препарата. Поэтому в практике промышленной энзимологии при производстве и коммерциализации ферментов в качестве характеристики принято использовать значение активности, определённой «*in vitro*» - в условиях биохимической лаборатории без использования живых организмов [181].

С биотехнологической точки зрения в промышленной энзимологии практически невозможно получить моноэнзимный продукт, либо осуществить высокую степень очистки от побочных активностей [1]. Возможно, в будущем различные генномодифицированные конструкции продуцентов смогут обеспечить производство монометаболитов, которые будут обеспечивать максимальную чистоту кормовых моноферментных препаратов.

Проблемы для потребителя заключаются в сложности ориентирования в этом многообразии предлагаемых рынком препаратов и часто в невозможности их сравнения. Производители указывают специфические активности ферментов, как правило, руководствуясь своими понятиями об единицах активности и методах их определения. Предлагаемые спецификациями методики анализа включают дорогостоящие субстраты и стандартные образцы, при этом субстраты в разных методиках могут различаться, а стандарты имеют заявляемые активности, получаемые по неизвестным методикам. В результате предлагаемый достаточно дорогостоящий анализ активности не обеспечивает сравнимости результатов.

Кроме того, имеются объективные различия ферментных препаратов одного и того же назначения, связанные с методом изготовления, в частности, с природой и свойствами продуцентов (грибы, бактерии), что отражается на условиях проведения ферментативной реакции (рН, температуре, продолжительности гидролиза). В результате, потребителю остается ориентироваться на рекомендуемые в инструкциях по применению нормы ввода, которые предлагается принимать на веру, что показано также в ряде работ [22].

На практике мы видим, что определение активности ферментов показывает нам активность того или иного энзима, входящего в коммерческий продукт. Эта активность говорит о «живучести» фермента [107, 108].

Таким образом, активность ферментов в единицах может быть полезна только для оценки жизнеспособности фермента или его наличия, скажем, в комбикорме после грануляции или экструдирования, и нет возможности полагаться на единицы активности ферментов в производственных условиях, где характеристикой фермента может служить только определение его эффективности, либо путем проведения производственных испытаний, как делается сейчас, либо в кормовых тестах «*in vitro*» в приближенных к ЖКТ условиях по температуре и рН среды, как описано в этой работе.

В экспериментальной энзимологии, конечно, остается необходимость проведения оценки единиц активности ферментов, т.к. это фундаментальное

понятие в биохимии и касается не только кормовых, но и любых других ферментов, в первую очередь, эндогенных. В лабораторных условиях, с научной точки зрения, такие методики приемлемы для оценки активности ферментов.

Указанные методы определения активности характеризуют фермент с точки зрения его активности, но не эффективности. Активность, как сказано выше, это работа фермента в «рафинированных» условиях при определенной температуре, рН, в установленном интервале времени и с химически чистым субстратом (зачастую условия которых далеки от условий в ЖКТ), которая показывает качество или, так сказать, его жизнеспособность с учетом срока годности, термостабильности и стабильности при хранении.

По нашему мнению, эффективность – это результат работы в виде количества продукта реакции, который образовался в результате этой работы, который можно определить и сравнить, но в «полевых» и доступных условиях, с конкретным кормовым сырьем и/или смесью кормового сырья или комбикормов, при рН и температуре, которые приближены к условиям ЖКТ у птицы.

Продукт реакции, т.е. моносахарид, который как правило является редуцирующим (восстанавливающим), который можно определить описываемым в этой работе методом.

Концепция «эффективности ферментов *in vitro*» также основывается на одной из характеристик, определяющей эффективность ферментов «*in vitro*», это понятие - закон Ковисона или закон убывающей отдачи, иными словами, закон убывающей эффективности, что напрямую характеризует целесообразность применения кормовых ферментов. Эффект, получаемый от кормовых ферментов, как впрочем и от других кормовых добавок, значительно ниже в рационах, которые содержат легкоусвояемые компоненты, что и создает условия для появления закона Ковисона – на каждый 1% повышения усвоения корма, эффективность кормовых ферментов снижается на 5% [125, 124].

На рисунке 31, хорошо показана зависимость усвояемости питательных веществ от эффективности ферментов в рационах. В частности, удается весьма достоверно увидеть усвояемость обменной энергии корма и аминокислот в подвздошной кишке.

В последнее десятилетие наработано достаточно практического материала по оценке целесообразности применения ферментов сверх рациона, когда было очевидно, что ферменты не «работают», просто потому что, в рационе достаточно высокоусвояемых компонентов, которые «тратят» эффективность фермента впустую.

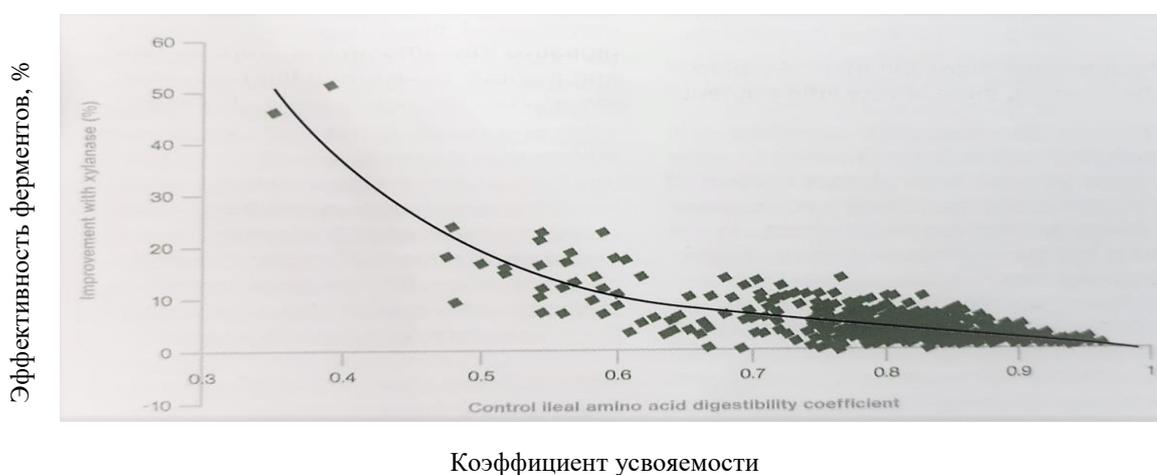


Рисунок 31 - Иллюстрация закона Ковисона. Снижение эффективности ферментов при увеличении усвояемости питательных веществ (Cowieson, 2010)

Таким образом, определяемая эффективность является дополняющей к активности характеристикой ферментных композиций, которая позволяет оценить способность разрушать НКП различного сырья и их смесей, а также подбирать наиболее эффективные ферментные композиции для конкретных структур рационов.

Закон Ковисона или закон убывающей отдачи говорит, что на каждый 1% повышения усвояемости корма, эффективность фермента уменьшается на 5%. В этой научной работе этот показатель подтвердился (таблица 19). Средний коэффициент закона Ковисона для всех ферментных композиций составил 5,22.

Таблица 19 - Коэффициент закона Ковисона и его взаимосвязь с эффективностью ферментов

| Фермент            | Улучшение показателей, % к контролю | Эффективность фермента | Коэффициент закона Ковисона |
|--------------------|-------------------------------------|------------------------|-----------------------------|
| Акстра ХАР         | 12,7                                | 77                     | 6,06                        |
| Ровабио            | 7,5                                 | 34                     | 4,53                        |
| Вилзим             | 6,7                                 | 33                     | 4,93                        |
| ЭнзимКомплекс      | 6,1                                 | 34                     | 5,57                        |
| Ронозим            | 5,9                                 | 27                     | 4,58                        |
| Акстра ХВ          | 5,7                                 | 33                     | 5,79                        |
| Хостазим Комби     | 4,2                                 | 21                     | 5,00                        |
| Натугрейн          | 3,6                                 | 19                     | 5,28                        |
| Среднее значение   | 6,55                                | 34,75                  | 5,22                        |
| Среднее отклонение | 1,61                                | 9,39                   | 0,41                        |

### **3.2 Определение эффективности различных мультиферментных добавок при выращивании цыплят-бройлеров (первый научно-хозяйственный опыт)**

#### **3.2.1 Условия проведения научно-хозяйственного опыта**

Суточные цыплята были размещены в птичнике, разделенный на 9 секций, каждая секция была оборудована ниппельной системой поения с емкостью для смешивания лекарственных препаратов и вакцин, система кормления представляла собой групповые круглые кормушки итальянской компании Джордано Поултри Пласт в каждой секции (рисунок 32).

Для проведения опыта были сформированы 9 групп суточных цыплят по 100 голов в каждой группе (таблица 20).

Первая группа была контрольная, которая получала основной рацион. Остальные 8 групп были опытные, где цыплята получали с комбикормом мультиферментные препараты: 2-опытная – Натугрейн TS – 100 г/т, 3-опытная – Ровабио Эксель 50 г/т, 4 -опытная – Ронозим Мультигрейн – 125 г/т, 5-опытная – Акстра ХВ – 100 г/т, 6-опытная – Акстра ХАР – 100 г/т, 7 -опытная – Хостазим Комби – 100 г/т, 8-опытная – Вилзим – 20 г/т, 9-опытная

– ЭнзимКомплекс – 750 г/т. Микроклимат обеспечивался электрическими инфракрасными брудерами (в каждой секции) и многоскоростными вентиляторами.



Рисунок 32 - Взвешивание и подсчет цыплят в секции  
Температурный режим обеспечивался термостатами (в каждой секции).

Таблица 20 - Дизайн первого научно-хозяйственного опыта

| Группа          | Прод. опыта, дней | Особенности рационов                  |
|-----------------|-------------------|---------------------------------------|
| 1 - Контрольная | 42                | ОР – основной рацион                  |
| 2 - Опытная     | 42                | ОР + Натугрейн TS 100 г/т комбикорма  |
| 3 - Опытная     | 42                | ОР + Ровабио Эксель 50 г/т комбикорма |
| 4 - Опытная     | 42                | ОР + Ронозим GT 125 г/т комбикорма    |
| 5 - Опытная     | 42                | ОР + Акстра ХВ 100 г/т комбикорма     |
| 6 - Опытная     | 42                | ОР + Акстра ХАР 100 г/т комбикорма    |
| 7 - Опытная     | 42                | ОР + Хостазим Комби 100г/т комбикор   |
| 8- Опытная      | 42                | ОР + Вилзим 20 г/т комбикорма         |
| 9 - Опытная     | 42                | ОР + ЭнзимКомплекс 750г/т комбикорм   |

Виды основного рациона представлены в таблице 21.

Таблица 21 – Виды основного рациона

| Виды основного рациона | Длительность применения комбикорма, период в днях |                  |                  |
|------------------------|---------------------------------------------------|------------------|------------------|
|                        | 1 фаза кормления                                  | 2 фаза кормления | 3 фаза кормления |
| ОР – 1 фаза кормления  | 0-21                                              | -                | -                |
| ОР – 2 фаза кормления  | -                                                 | 22-35            | -                |
| ОР – 3 фаза кормления  | -                                                 | -                | 36 - 42          |

Основной рацион в 1 фазу кормления цыплят-бройлеров представлял собой комбикорм в составе, которого были: пшеница– 48,00%, шрот соевый - 17,90%, соевый концентрат - 12,00%, кукуруза - 11,80%, шрот подсолнечный - 3,00%, масло соевое – 3,00%, монокальций фосфат – 0,85%, лизин HCl 98% – 0,43%, известняк 37,4% - 0,31%, DL-метионин 99% - 0,28%, холин хлорид 60% - 0,20%, L-треонин 98% - 0,10%, соль поваренная – 0,08%, сульфат натрия – 0,05% (таблица 22).

Таблица 22 – Рецепт комбикорма П-5.1. для цыплят-бройлеров с 0 по 21 день выращивания (1 фаза кормления)

| Наименование кормового сырья и кормовых добавок | Норма ввода, % |
|-------------------------------------------------|----------------|
| Пшеница                                         | 48,00          |
| Кукуруза                                        | 11,80          |
| Шрот соевый                                     | 17,90          |
| Соевый концентрат                               | 12,00          |
| Шрот подсолнечный                               | 3,00           |
| Масло соевое                                    | 3,00           |
| Премикс П5.1. 2%                                | 2,00           |
| Монокальций фосфат                              | 0,85           |
| Лизин HCl 98%                                   | 0,43           |
| Известняк 37,4%                                 | 0,31           |
| DL-Метионин 99%                                 | 0,28           |
| Холин хлорид 60%                                | 0,20           |
| L-Треонин                                       | 0,10           |
| Соль поваренная                                 | 0,08           |
| Сульфат натрия                                  | 0,05           |
| Питательность 100 г комбикорма                  |                |
| ОЭ птицы, ккал                                  | 309,66         |
| Сырой протеин,%                                 | 23,02          |
| Сырой жир,%                                     | 4,92           |
| Сырая клетчатка,%                               | 3,68           |
| Линолевая кислота,%                             | 2,40           |
| Лизин об.,%                                     | 1,40           |
| Лизин усв.,%                                    | 1,24           |
| Метионин об.,%                                  | 0,60           |
| Метионин усв.,%                                 | 0,55           |
| Мет+Цис об.,%                                   | 0,99           |
| Мет+Цис усв.,%                                  | 0,94           |
| Треонин об.,%                                   | 0,95           |

|                    |      |
|--------------------|------|
| Треонин усв.,%     | 0,82 |
| Триптофан об.,%    | 0,26 |
| Триптофан усв.,%   | 0,22 |
| Аргинин об.,%      | 1,48 |
| Аргинин усв.,%     | 1,29 |
| Валин об.,%        | 1,07 |
| Валин усв.,%       | 0,92 |
| Гистидин об.,%     | 0,49 |
| Гистидин усв.,%    | 0,41 |
| Глицин об.,%       | 1,05 |
| Глицин усв.,%      | 0,86 |
| Изолейцин об.,%    | 0,94 |
| Изолейцин усв.,%   | 0,79 |
| Лейцин об.,%       | 1,61 |
| Лейцин усв.,%      | 1,44 |
| Фенилаланин об.,%  | 0,81 |
| Фенилаланин усв.,% | 0,70 |
| Тирозин об.,%      | 0,69 |
| Тирозин усв.,%     | 0,61 |
| Кальций, %         | 1,01 |
| Фосфор об.,%       | 0,71 |
| Фосфор усв.,%      | 0,41 |
| Натрий, %          | 0,20 |
| Хлор, %            | 0,20 |

Таким образом, в 100 г комбикорма для бройлеров в возрасте 0-21 день было 309,66 ккал обменной энергии и 23,02 грамм сырого протеина.

Основной рацион во 2 фазу кормления цыплят-бройлеров представлял собой комбикорм в составе, которого были: пшеница - 49,18%, соевый концентрат - 11,68%, кукуруза - 8,00%, шрот подсолнечный - 8,00%, шрот соевый - 5,00%, кукурузный глютен - 4,04%, масло соевое – 3,45%, горох – 3,00%, дрожжи кормовые - 2,49%, премикс П5.2. 2% - 2,00%, фосфат дефторированный – 1,29%, мука мякостная - 1,00%, лизин HCl 98% - 0,51%, DL-метионин 99% - 0,17%, холин хлорид 60% - 0,14%, L-треонин 98% - 0,05% (таблица 23).

Таблица 23 – Рецепт комбикорма П-5.2. для цыплят-бройлеров 22-35 день  
выращивания (2 фаза кормления)

| Наименование кормового сырья и кормовых добавок | Норма ввода, % |
|-------------------------------------------------|----------------|
| Пшеница                                         | 49,18          |
| Соевый концентрат                               | 11,68          |
| Кукуруза                                        | 8,00           |
| Шрот подсолнечный                               | 8,00           |
| Шрот соевый                                     | 5,00           |
| Кукурузный глютен                               | 4,04           |
| Масло соевое                                    | 3,45           |
| Горох                                           | 3,00           |
| Дрожжи кормовые                                 | 2,49           |
| Премикс П5.2. 2%                                | 2,00           |
| Фосфат дефторированный                          | 1,29           |
| Мука мясокостная                                | 1,00           |
| Лизин НС1 98%                                   | 0,51           |
| DL-Метионин 99%                                 | 0,17           |
| Холин хлорид 60%                                | 0,14           |
| L-Треонин                                       | 0,05           |
| Питательность 100 г комбикорма                  |                |
| ОЭ птицы, ккал                                  | 315,10         |
| Сырой протеин,%                                 | 21,03          |
| Сырой жир,%                                     | 5,67           |
| Сырая клетчатка,%                               | 3,91           |
| Линолевая кислота,%                             | 2,77           |
| Лизин об.,%                                     | 1,26           |
| Лизин усв.,%                                    | 0,10           |
| Метионин об.,%                                  | 0,53           |
| Метионин усв.,%                                 | 0,48           |
| Мет+Цис об.,%                                   | 0,91           |
| Мет+Цис усв.,%                                  | 0,85           |
| Треонин об.,%                                   | 0,85           |
| Треонин усв.,%                                  | 0,72           |
| Триптофан об.,%                                 | 0,24           |
| Триптофан усв.,%                                | 0,20           |
| Аргинин об.,%                                   | 1,31           |
| Аргинин усв.,%                                  | 1,12           |
| Валин об.,%                                     | 0,96           |
| Валин усв.,%                                    | 0,81           |
| Гистидин об.,%                                  | 0,44           |
| Гистидин усв.,%                                 | 0,38           |

|                    |      |
|--------------------|------|
| Глицин об.,%       | 0,95 |
| Глицин усв.,%      | 0,78 |
| Изолейцин об.,%    | 0,84 |
| Изолейцин усв.,%   | 0,71 |
| Лейцин об.,%       | 1,48 |
| Лейцин усв.,%      | 1,32 |
| Фенилаланин об.,%  | 0,75 |
| Фенилаланин усв.,% | 0,64 |
| Тирозин об.,%      | 0,66 |
| Тирозин усв.,%     | 0,57 |
| Кальций, %         | 0,90 |
| Фосфор об.,%       | 0,70 |
| Фосфор усв.,%      | 0,41 |
| Натрий, %          | 0,20 |
| Хлор, %            | 0,20 |

Таким образом, в 100 г комбикорма для бройлеров в возрасте 15 - 28 дней было 315,10 ккал обменной энергии и 21,03 грамм сырого протеина.

Основной рацион в 3 фазу кормления цыплят-бройлеров представлял собой комбикорм со следующими ингредиентами: пшеница - 44,21%, кукуруза - 12,00%, шрот подсолнечный - 12,00%, соевый концентрат - 8,56%, масло соевое – 6,58%, шрот соевый - 4,50%, горох – 4,00%, дрожжи кормовые - 2,5%, премикс Пб.1. 2% - 2,00%, мука мясокостная - 2,00%, монокальций фосфат – 0,66%, известняк 37% - 0,30%, лизин HCl 98% - 0,27%, DL-метионин 99% - 0,16%, холин хлорид 60% - 0,14%, соль поваренная – 0,08%, L-треонин 98% - 0,04% (таблица 24).

Таблица 24 – Рецепт комбикорма П-6.1. для цыплят-бройлеров с 36 по 42 день выращивания (3 фаза кормления)

| Наименование кормового сырья и кормовых добавок | %     |
|-------------------------------------------------|-------|
| Пшеница                                         | 44,21 |
| Кукуруза                                        | 12,00 |
| Шрот подсолнечный                               | 12,00 |
| Соевый концентрат                               | 8,56  |
| Масло соевое                                    | 6,58  |
| Шрот соевый                                     | 4,50  |

|                                |        |
|--------------------------------|--------|
| Горох                          | 4,00   |
| Дрожжи кормовые                | 2,50   |
| Премикс Пб.1. 2%               | 2,00   |
| Мука мясокостная               | 2,00   |
| Монокальций фосфат             | 0,66   |
| Известняк 37%                  | 0,30   |
| Лизин НС1 98%                  | 0,27   |
| DL-Метионин 99%                | 0,16   |
| Холин хлорид 60%               | 0,14   |
| Соль поваренная                | 0,08   |
| L-Треонин                      | 0,04   |
| Питательность 100 г комбикорма |        |
| ОЭ птицы, ккал                 | 320,03 |
| Сырой протеин,%                | 20,01  |
| Сырой жир,%                    | 8,55   |
| Сырая клетчатка,%              | 4,04   |
| Линолевая кислота,%            | 4,28   |
| Лизин об.,%                    | 1,17   |
| Лизин усв.,%                   | 1,03   |
| Метионин об.,%                 | 0,45   |
| Метионин усв.,%                | 0,40   |
| Мет+Цис об.,%                  | 0,85   |
| Мет+Цис усв.,%                 | 0,74   |
| Треонин об.,%                  | 0,80   |
| Треонин усв.,%                 | 0,67   |
| Триптофан об.,%                | 0,22   |
| Триптофан усв.,%               | 0,18   |
| Аргинин об.,%                  | 1,10   |
| Аргинин усв.,%                 | 0,94   |
| Валин об.,%                    | 0,85   |
| Валин усв.,%                   | 0,71   |
| Гистидин об.,%                 | 0,43   |
| Гистидин усв.,%                | 0,36   |
| Глицин об.,%                   | 0,90   |
| Глицин усв.,%                  | 0,74   |
| Изолейцин об.,%                | 0,75   |
| Изолейцин усв.,%               | 0,64   |
| Лейцин об.,%                   | 1,41   |
| Лейцин усв.,%                  | 1,22   |
| Фенилаланин об.,%              | 0,68   |
| Фенилаланин усв.,%             | 0,57   |
| Тирозин об.,%                  | 0,62   |

|                |      |
|----------------|------|
| Тирозин усв.,% | 0,52 |
| Кальций,%      | 0,91 |
| Фосфор об.,%   | 0,70 |
| Фосфор усв.,%  | 0,43 |
| Натрий,%       | 0,20 |
| Хлор,%         | 0,20 |

Таким образом, в 100 г комбикорма для бройлеров в возрасте 29 - 42 дня было 320,03 ккал обменной энергии и 20,01 грамм сырого протеина.

В опытных группах соответственно использовались указанные рационы с добавкой соответствующего ферментного препарата согласно таблице. Ферментные препараты в данной работе использовались «сверх» рациона без применения матричных значений, которые предлагаются использовать производителями соответствующих препаратов.

Все партии комбикорма производились на комбикормовом заводе ООО «ЮК» г. Тимашевск, Краснодарского края. Комбикорм производился в рассыпном виде для минимизации возможных потерь при грануляции и искажении результатов исследования.

### **3.2.2 Зоотехнические показатели выращивания цыплят-бройлеров**

Были изучены зоотехнические (хозяйственные) показатели как результаты производства и получения продукции птицеводства, и в частности, мяса цыплят-бройлеров, что в конечном итоге формирует себестоимость продукции и ее экономическую эффективность производства.

Применение разных мультиферментных композиций показало существенное увеличение таких показателей как прирост живой массы, среднесуточный привес и оплату корма продукцией (конверсию корма) в отличии от контрольной группы, в которой кормовые ферменты не применялись (кроме фитазы).

Кроме того, при сравнении результатов опытных групп между собой, было замечено, что разные составы ферментов дают отличающийся результат.

Таким образом, важно подбирать ту или иную ферментную композицию в зависимости от структуры рациона и входящего в него сырья. Зоотехнические показатели, которые были получены в результате проведения научно-хозяйственного опыта представлены в таблице 25.

Таблица 25 – Зоотехнические показатели выращивания цыплят-бройлеров (M±m) (n=100)

| Группа     | Средняя живая масса птицы, грамм |                    |                    |                     |                      |                      |                      |
|------------|----------------------------------|--------------------|--------------------|---------------------|----------------------|----------------------|----------------------|
|            | Возраст птицы, дней              |                    |                    |                     |                      |                      |                      |
|            | 0                                | 7                  | 14                 | 21                  | 28                   | 35                   | 42                   |
| 1 Контроль | 43,20<br>±0,18                   | 190,33±<br>1,97    | 480,97±<br>4,56    | 930,02±1<br>6,49    | 1503,45±<br>9,97     | 2146,69±<br>12,88    | 2810,64±<br>18,14    |
| 2 Опытная  | 43,40<br>±0,17                   | 195,09±<br>1,83    | 494,49±<br>4,35*** | 963,31±1<br>6,19**  | 1558,48±<br>10,47*** | 2232,99±<br>13,60*** | 2912,83±<br>17,43*** |
| 3 Опытная  | 43,01<br>±0,18                   | 201,12±<br>2,13*** | 511,03±<br>3,91*** | 992,92±1<br>6,70    | 1607,71±<br>10,10*** | 2311,93±<br>13,84*** | 3020,94±<br>18,26*** |
| 4 Опытная  | 42,85<br>±0,19                   | 193,07±<br>2,08    | 507,65±<br>4,80*** | 984,43±1<br>7,05    | 1591,87±<br>10,78*** | 2301,36±<br>13,37*** | 2975,87±<br>16,60*** |
| 5 Опытная  | 43,03<br>±0,16                   | 199,40±<br>1,99**  | 505,44±<br>4,20*** | 978,75±1<br>6,76    | 1583,20±<br>9,57***  | 2271,88±<br>12,97*** | 2969,88±<br>17,24*** |
| 6 Опытная  | 43,09<br>±0,18                   | 209,31±<br>1,83*** | 532,42±<br>3,84*** | 1033,67±<br>7,93*** | 1673,01±<br>9,19***  | 2406,82±<br>12,52*** | 3166,59±<br>16,79*** |
| 7 Опытная  | 43,02<br>±0,18                   | 198,45±<br>1,71**  | 501,84±<br>4,73**  | 971,57±1<br>6,97    | 1571,71±<br>9,78***  | 2248,74±<br>13,97*** | 2929,70±<br>17,02*** |
| 8 Опытная  | 42,97<br>±0,17                   | 199,78±<br>1,78*** | 513,24±<br>3,03*** | 993,46±1<br>6,30**  | 1606,71±<br>10,35*** | 2296,23±<br>12,23*** | 2997,93±<br>16,27*** |
| 9 Опытная  | 42,82<br>±0,15                   | 193,05±<br>1,62    | 509,10±<br>5,33*** | 984,56±1<br>6,51*   | 1593,10±<br>9,41***  | 2275,05±<br>14,34*** | 2981,09±<br>17,81*** |

\*P≥0,95; \*\*P≥0,99; \*\*\*P≥0,999

При этом вес бройлеров в 1-контрольной группе (КГ) составлял – 2810,64 г, во 2-опытной группы – 2912,83 г (на 3,63 % больше КГ), 3 опытной – 3020,94 г (на 7,48% больше КГ), 4-опытной – 2975,87 г (на 5,87% больше КГ), 5-опытной – 2969,88 г (на 5,67% больше КГ), 6-опытной – 3166,59 г (на 12,66% больше КГ), 7-опытной – 2929,70 г (на 4,23% больше КГ), 8-опытной – 2997,93 г (6,67% больше КГ), 9-опытной – 2981,09 г (на 6,06% больше КГ).

Данные среднесуточного привеса живой массы мясных цыплят отражены на рисунке 33.



Рисунок 33 - Среднесуточный привес живой массы мясных цыплят, г

Таблица 26 – Количество цыплят-бройлеров в группах и их сохранность к концу опыта, гол.

| Группа     | Количество голов в группах |     |     |     |     |     |     |
|------------|----------------------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
|            | Возраст птицы, дней        |     |     |     |     |     |     |
|            | 0                          | 7   | 14  | 21  | 28  | 35  | 42  |
| 1 Контроль | 100                        | 99  | 97  | 96  | 95  | 95  | 95  |
| 2 Опытная  | 100                        | 99  | 99  | 98  | 97  | 97  | 97  |
| 3 Опытная  | 100                        | 98  | 98  | 97  | 96  | 96  | 96  |
| 4 Опытная  | 100                        | 99  | 99  | 99  | 98  | 97  | 97  |
| 5 Опытная  | 100                        | 98  | 98  | 97  | 97  | 97  | 97  |
| 6 Опытная  | 100                        | 99  | 98  | 98  | 97  | 97  | 97  |
| 7 Опытная  | 100                        | 99  | 99  | 97  | 96  | 96  | 96  |
| 8 Опытная  | 100                        | 98  | 98  | 97  | 97  | 97  | 97  |
| 9 Опытная  | 100                        | 99  | 98  | 98  | 98  | 97  | 97  |
| Итого      | 900                        | 888 | 884 | 877 | 871 | 869 | 869 |

В конце опыта сохранность поголовья в подопытных группах варьировала от 95 % до 97 % (таблица 26 и 27).

Таблица 27 – Количество цыплят-бройлеров в группах и их сохранность к концу опыта, гол.

| Группа     | Всего голов на убой | Падеж за период откорма, гол | Сохранность на конец опыта, % |
|------------|---------------------|------------------------------|-------------------------------|
| 1 Контроль | 95                  | 5                            | 95,00                         |
| 2 Опытная  | 97                  | 3                            | 97,00                         |
| 3 Опытная  | 96                  | 4                            | 96,00                         |
| 4 Опытная  | 97                  | 3                            | 97,00                         |
| 5 Опытная  | 97                  | 3                            | 97,00                         |
| 6 Опытная  | 97                  | 3                            | 97,00                         |
| 7 Опытная  | 96                  | 4                            | 96,00                         |
| 8 Опытная  | 97                  | 3                            | 97,00                         |
| 9 Опытная  | 97                  | 3                            | 97,00                         |
| Итого      | 869                 | 31                           | 96,55                         |

Падеж птицы на протяжении всего опыта не был связан с кормовым фактором.

Затраты корма на 1 кг привеса – это важный показатель оценки экономической и зоотехнической эффективности производства мяса птицы [2].

Таблица 28 – Потребление комбикормов подопытной птицей

| Показатель | Потреблено комбикорма на 1 голову, кг | Затрачено на 1 кг прироста живой массы, кг |
|------------|---------------------------------------|--------------------------------------------|
| 1 Контроль | 4739                                  | 1,69                                       |
| 2 Опытная  | 4739                                  | 1,61                                       |
| 3 Опытная  | 4739                                  | 1,56                                       |
| 4 Опытная  | 4739                                  | 1,59                                       |
| 5 Опытная  | 4739                                  | 1,59                                       |
| 6 Опытная  | 4739                                  | 1,48                                       |
| 7 Опытная  | 4739                                  | 1,59                                       |
| 8 Опытная  | 4739                                  | 1,56                                       |
| 9 Опытная  | 4739                                  | 1,59                                       |

Затраты корма на 1 кг привеса составили в контрольной группе – 1,69 кг, во 2й опытной – 1,61 кг (меньше на 4,54% в сравнении с КГ), 3 опытной – 1,59 кг (меньше на 7,27% в сравнении с КГ), 4 опытной – 1,59 кг (меньше на 5,84% в сравнении с КГ), 5 опытной – 1,59 кг (меньше на 5,54% в сравнении с КГ), 6 опытной – 1,48 кг меньше на 12,18% в сравнении с КГ), 7 опытной – 1,59 кг (меньше на 5,86% в сравнении с КГ), 8 опытной – 1,56 кг (меньше на 7,60% в сравнении с КГ), 9 опытной – 1,59 кг (меньше на 5,99% в сравнении с КГ) (таблица 28, рисунок 34).



Рисунок 34 - Затрачено комбикорма на 1 кг прироста живой массы цыплят, кг

Наилучший результат наблюдается в группе 6, где использовалась Акстра ХАР (НКП-ферменты плюс амилаза и протеаза) – минус 12,18% к контрольной группе. Также наблюдается эффективная конверсия корма в группах 3 (Ровабио Эксель) и 8 (Вилзим).

На рисунке 35 хорошо видна связь между эффективностью кормовых ферментов, определенная по нашей методике в лабораторных условиях с убойным весом и среднесуточным привесом при выращивании цыплят-бройлеров.

Например, в контрольной группе без ферментов ССП составил 66,92 г/сут, а убойный вес – 2810,64 г, в то время как, в опытной группе с Акстра ХАР – ССП составил 75,40 г/сут, а убойный вес – 3166,59 г и эффективность фермента составила 77%.

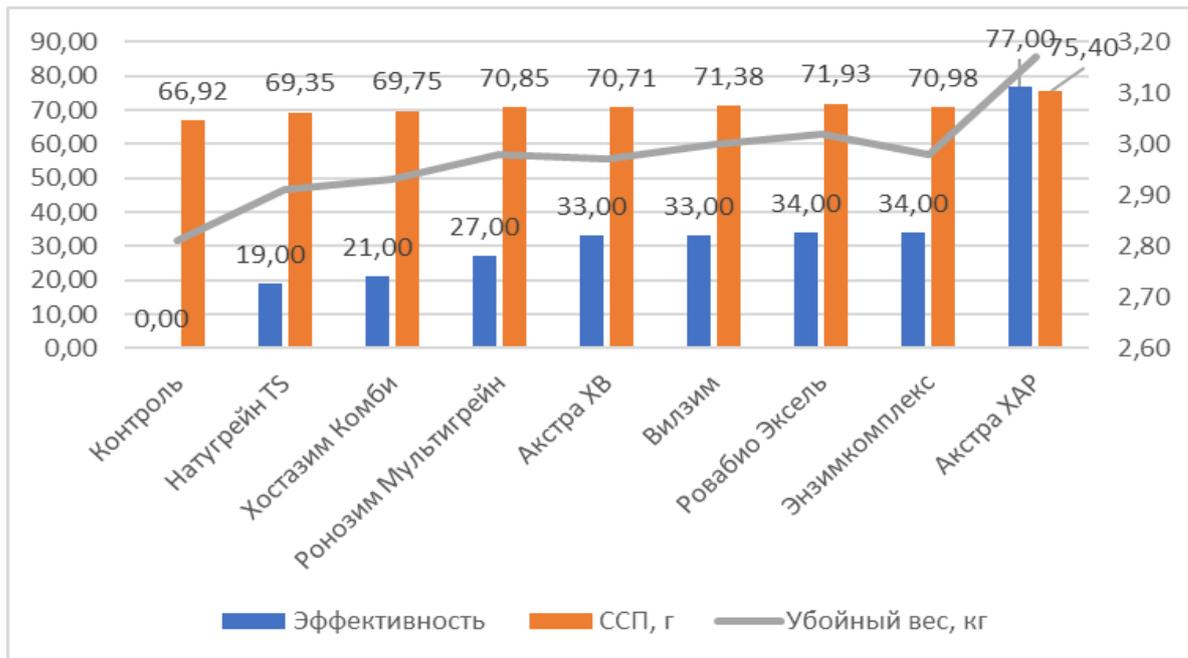


Рисунок 35 - Корреляция эффективности ферментов (%) с убойным весом (кг) и среднесуточным привесом (г)

Таким образом, при эффективности фермента в пределах 77% мы видим улучшение зоотехнических показателей на 12,7%. Коэффициент составляет 6,06.

### 3.2.3 Гематологические показатели цыплят-бройлеров

Гематологические показатели показывают физиологическое состояние организма цыплят-бройлеров [64].

Кровь обеспечивает многие важные жизненные функции организма, в т.ч. транспорт питательных веществ к тканям и органам, а также регуляцию всего метаболизма [11].

Контроль полноценности научно-обоснованного кормления птицы необходимо осуществлять путем мониторинга биохимических и морфологических показателей крови [16].

По результатам исследований уровень эритроцитов в 1-контрольной группе был на уровне –  $2,17 \times 10^{12}/л$ , во 2-опытной группе –  $2,24 \times 10^{12}/л$ , что выше, чем в контроле на 3,23 %, в 3-опытной группе –  $2,26 \times 10^{12}/л$ , что выше, чем в контроле на 4,15 %, в 4-опытной группе –  $2,18 \times 10^{12}/л$ , что выше, чем в контроле на 0,46 %, в 5-опытной группе –  $2,19 \times 10^{12}/л$ , что выше, чем в контроле на 0,92 %, в 6-опытной группе –  $2,25 \times 10^{12}/л$ , что выше, чем в контроле на 3,69 %, в 7-опытной группе –  $2,24 \times 10^{12}/л$ , что было выше чем в контрольной группе цыплят на 3,23 %, в 8-опытной группе –  $2,19 \times 10^{12}/л$ , что выше, чем в контроле на 0,92 %, в 9-опытной группе –  $2,21 \times 10^{12}/л$ , что выше, по сопоставлению с контрольной группой цыплят-бройлеров на 1,84 % (таблица 29).

Таблица 29 – Морфологические показатели цыплят-бройлеров на момент убоя, ( $M \pm m$ ) (n=6)

| Группа        | Показатели              |                     |
|---------------|-------------------------|---------------------|
|               | Эритроциты, $10^{12}/л$ | Лейкоциты, $10^9/л$ |
| 1 контрольная | $2,17 \pm 0,07$         | $29,1 \pm 0,08$     |
| 2 опытная     | $2,24 \pm 0,03$         | $27,7 \pm 0,03$     |
| 3 опытная     | $2,26 \pm 0,06$         | $27,4 \pm 0,06$     |
| 4 опытная     | $2,18 \pm 0,09$         | $27,8 \pm 0,07$     |
| 5 опытная     | $2,19 \pm 0,04$         | $27,3 \pm 0,04$     |
| 6 опытная     | $2,25 \pm 0,05$         | $28,9 \pm 0,06$     |
| 7 опытная     | $2,24 \pm 0,07$         | $27,5 \pm 0,09$     |
| 8 опытная     | $2,19 \pm 0,10$         | $27,9 \pm 0,05$     |
| 9 опытная     | $2,21 \pm 0,06$         | $28,2 \pm 0,08$     |

Уровень содержание лейкоцитов в подопытных группах цыплят-бройлеров был в границах допустимых норм. Так, содержание лейкоцитов во 2-опытной группе было на уровне  $27,7 \times 10^{10}/л$ , что ниже, чем в контроле на  $1,4 \times 10^{10}/л$ , в 3-опытной группе –  $27,4 \times 10^{10}/л$ , что ниже, чем в контрольной группе на  $1,7 \times 10^{10}/л$ , в 4-опытной группе –  $27,8 \times 10^{10}/л$ , что ниже, чем в контроле на  $1,3 \times 10^{10}/л$ , в 5-опытной группе –  $27,3 \times 10^{10}/л$ , что ниже, чем в контроле на  $1,8 \times 10^{10}/л$ , в 6-опытной группе –  $28,9 \times 10^{10}/л$ , что ниже, чем в контрольной группе цыплят-бройлеров на  $0,2 \times 10^{10}/л$ , в 7-опытной группе –  $27,5 \times 10^{10}/л$ , что было ниже чем контрольной группе цыплят на  $1,6 \times 10^{10}/л$ , в 8-опытной группе –  $27,9 \times 10^{10}/л$ , что ниже, чем в контроле на  $1,2 \times 10^{10}/л$ , в 9-опытной группе –  $28,2 \times 10^{10}/л$ , что ниже, в сравнении с контрольной группой на  $0,9 \times 10^{10}/л$ .

Биохимические показатели крови, полученные от бройлеров контрольной и опытных группы, варьировали в границах физиологической нормы. Это свидетельствует о нормальном физиологическом статусе подопытной птицы (таблица 30).

Таблица 30 – Биохимические показатели крови цыплят-бройлеров на момент убоя, ( $M \pm m$ ) ( $n=6$ )

| Группа        | Показатели             |                        |                        |                      |                   |
|---------------|------------------------|------------------------|------------------------|----------------------|-------------------|
|               | Общий белок, г/л       | Альбумин, г/л          | Глюкоза, ммоль/л       | Кальций, ммоль/л     | Фосфор, ммоль/л   |
| 1 контрольная | $35,05 \pm 0,11$       | $16,42 \pm 0,14$       | $11,02 \pm 0,11$       | $2,55 \pm 0,08$      | $2,53 \pm 0,07$   |
| 2 опытная     | $36,43 \pm 0,08^{***}$ | $17,14 \pm 0,13^{**}$  | $12,89 \pm 0,10^{***}$ | $2,67 \pm 0,10$      | $2,66 \pm 0,05$   |
| 3 опытная     | $37,47 \pm 0,07^{***}$ | $17,55 \pm 0,12^{***}$ | $12,78 \pm 0,15^{***}$ | $2,52 \pm 0,09$      | $2,50 \pm 0,07$   |
| 4 опытная     | $36,89 \pm 0,12^{***}$ | $17,18 \pm 0,15^*$     | $12,32 \pm 0,12^{***}$ | $2,72 \pm 0,08$      | $2,68 \pm 0,11$   |
| 5 опытная     | $38,12 \pm 0,13^{***}$ | $17,79 \pm 0,18^{***}$ | $12,75 \pm 0,12^{***}$ | $2,89 \pm 0,11^*$    | $2,73 \pm 0,06$   |
| 6 опытная     | $38,25 \pm 0,10^{***}$ | $18,03 \pm 0,16^{***}$ | $13,13 \pm 0,13^{***}$ | $3,05 \pm 0,08^{**}$ | $2,83 \pm 0,07^*$ |
| 7 опытная     | $37,16 \pm 0,08^{***}$ | $17,37 \pm 0,12^{**}$  | $12,82 \pm 0,16^{***}$ | $2,31 \pm 0,10$      | $2,29 \pm 0,11$   |
| 8 опытная     | $36,76 \pm 0,06^{***}$ | $17,02 \pm 0,16^*$     | $12,91 \pm 0,20^{***}$ | $2,84 \pm 0,12$      | $2,72 \pm 0,08$   |
| 9 опытная     | $37,86 \pm 0,07^{***}$ | $17,65 \pm 0,17^{**}$  | $12,95 \pm 0,17^{***}$ | $3,02 \pm 0,09^*$    | $2,79 \pm 0,10$   |

\* $P \geq 0,95$ ; \*\* $P \geq 0,99$ ; \*\*\* $P \geq 0,999$

Проведенные биохимические исследования показали, что в крови цыплят-бройлеров опытных групп под влиянием мультиферментных препаратов повысился уровень общего белка. Так изучаемый показатель во 2-опытной

группе был на уровне 36,43 г/л, что выше, чем в контроле на 1,38 г/л, в 3-опытной группе – 37,47 г/л, что выше, чем в контроле на 2,42 г/л, в 4-опытной группе – 36,89 г/л, что выше, чем в контроле на 1,84 г/л, в 5-опытной группе – 38,12 г/л, что выше, чем в контроле на 3,07 г/л, в 6-опытной группе – 38,25 г/л, что выше, чем в контроле на 3,20 г/л, в 7-опытной группе – 37,16 г/л, что выше на 2,11 г/л в сравнении с контрольной группой цыплят-бройлеров, в 8-опытной группе – 36,76 г/л, что выше, чем в контроле на 1,71 г/л, в 9-опытной группе – 37,86 г/л, что выше, по сопоставлению с контрольной группой цыплят-бройлеров на 2,81 г/л. В 1-контрольной группе уровень общего белка был на уровне 35,05 г/л.

Это говорит о том, что белковый обмен в организме цыплят, получавших кормовые ферменты имел более высокую интенсивность. Доля альбумина к общему белку во всех группах составила порядка 45%, что соответствует норме.

Содержание глюкозы в крови птицы говорит нам о протекании углеводного обмена и глюкоза является основным моносахаридом, который участвует в энергетическом и пластическом обмене веществ.

Содержание глюкозы в крови цыплят-бройлеров опытных групп, получавших дополнительно к комбикорму мультиферментные препараты, было выше по сравнению с контролем на 1,30-2,11 ммоль/л. В крови цыплят-бройлеров 1-контрольной группы глюкоза была на уровне 11,02 ммоль/л.

Усвоение кальция и фосфора птицы было несколько выше в опытных группах по сравнению с контрольной группой, что подтверждено содержанием изучаемых макроэлементов в крови. Количество содержания кальция в крови бройлеров 1-контрольной группы было на уровне – 2,31 ммоль/л, во 2-опытной группе – 2,55 ммоль/л, что выше, чем в контрольной группе на 0,24 ммоль/л, в 3-опытной группе – 2,67 ммоль/л, что выше, чем в контрольной группе на 0,36 ммоль/л, в 4-опытной группе – 2,52 ммоль/л, что выше, чем в контроле на 0,21 ммоль/л, в 5-опытной группе – 2,72 ммоль/л, что выше, чем в контроле на 0,41 ммоль/л, в 6-опытной группе – 2,89 ммоль/л, что выше, чем в контрольной группе цыплят-бройлеров на 0,58 ммоль/л, в 7-опытной группе –

3,05 ммоль/л, что было выше, чем контрольной группе цыплят на 0,74 ммоль/л, в 8-опытной группе – 2,84 ммоль/л, что выше, чем в контроле на 0,53 ммоль/л, в 9-опытной группе – 3,02 ммоль/л, что выше, в сравнении с контрольной группой на 0,71 ммоль/л.

Уровень содержания фосфора в крови цыплят-бройлеров в 1-контрольной группе составил – 2,29 ммоль/л, во 2-опытной группе – 2,53 ммоль/л, что выше, чем в контрольной группе на 0,24 ммоль/л в 3-опытной группе – 2,66 ммоль/л, что выше, чем в контрольной группе на 0,37 ммоль/л, в 4-опытной группе – 2,50 ммоль/л, что выше, чем в контроле на 0,21 ммоль/л, в 5-опытной группе – 2,68 ммоль/л, что выше, чем в контроле на 0,39 ммоль/л, в 6-опытной группе – 2,73 ммоль/л, что выше, чем в контрольной группе цыплят-бройлеров на 0,44 ммоль/л, в 7-опытной группе – 2,83 ммоль/л, что было выше, чем контрольной группе цыплят на 0,54 ммоль/л, в 8-опытной группе – 2,72 ммоль/л, что выше, чем в контроле на 0,43 ммоль/л, в 9-опытной группе – 2,79 ммоль/л, что выше, в сравнении с контрольной группой цыплят-бройлеров на 0,50 ммоль/л.

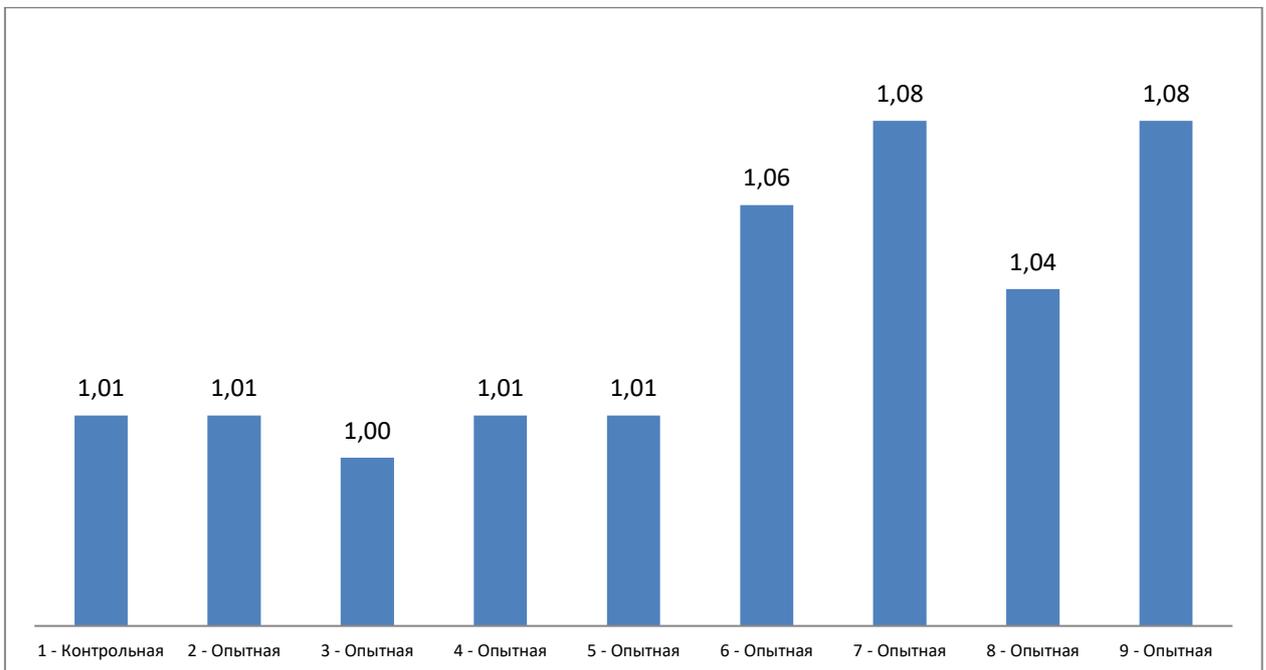


Рисунок 36 - Соотношение кальция к фосфору в крови подопытных бройлеров

Соотношение кальция к фосфору в крови подопытной птицы находилось в допустимом диапазоне от 1,00 до 1,08 (рисунок 36).

Таким образом, введение мультиферментных препаратов в рационы цыплят-бройлеров оказало положительное влияние на гематологический состав подопытной птицы.

### **3.2.4 Расчет экономической эффективности выращивания цыплят-бройлеров**

Экономическая эффективность и себестоимость 1 кг продукции является основным показателем целесообразности применения тех или иных кормовых добавок, в частности, мультиферментных препаратов в том числе.

Каждый рубль стоимости той или иной добавки, вложенный в себестоимость комбикорма, должен давать как минимум прибыль, большую чем вложения [54, 88].

Валовый выход мяса в группах бройлеров, получавших мультиферментные препараты в составе комбикорма, был выше, чем в контрольной группе от 13,64 кг до 32,83 кг (таблица 31).

Дополнительные затраты на ферментные препараты в опытных группах были следующие: во 2-опытной группе бройлеров, получавших ферментный препарат Натугрейн TS с комбикормом, - 52,13 руб., в 3- и 5-опытной группах бройлеров, получавших с комбикормом ферментный препарат Ровабио Эксель AP и Акстра ХВ, - 23,70 руб., 4- и 6-опытной группах бройлеров, получавших с комбикормом ферментный препарат Ронозим Мультигрейн и Акстра ХАР, - 71,09 руб.

Дополнительные затраты на ферментные препараты Хостазим Комби, Вилзим и ЭнзимКомплекс в 7-, 8- и 9-опытной группах составили соответственно 37,91 руб., 9,48 руб. и 9,48 руб.

Производственные затраты за период проведения опыта на 100 голов бройлеров составили от 18013,89 руб. до 18084,97 руб.

Таблица 31 - Экономическая эффективность использования ферментных препаратов в комбикормах цыплят-бройлеров

| Показатель                                                           | Группы            |               |               |               |               |               |               |               |               |
|----------------------------------------------------------------------|-------------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|
|                                                                      | 1-<br>Контрольная | 2-<br>Опытная | 3-<br>Опытная | 4-<br>Опытная | 5-<br>Опытная | 6-<br>Опытная | 7-<br>Опытная | 8-<br>Опытная | 9-<br>Опытная |
| Поголовье на начало опыта, гол                                       | 100,00            | 100,00        | 100,00        | 100,00        | 100,00        | 100,00        | 100,00        | 100,00        | 100,00        |
| Процент сохранности поголовья, %                                     | 95,00             | 97,00         | 96,00         | 97,00         | 97,00         | 97,00         | 96,00         | 97,00         | 97,00         |
| Средний вес одной головы бройлера, г                                 | 2810,64           | 2912,83       | 3020,94       | 2975,87       | 2969,88       | 3166,59       | 2929,70       | 2997,93       | 2981,09       |
| Вес тушки потрошенной, г                                             | 2082,12           | 2179,76       | 2248,00       | 2211,53       | 2203,59       | 2377,59       | 2212,40       | 2255,14       | 2215,44       |
| Всего получено мяса (выход валовой), кг                              | 197,80            | 211,44        | 215,81        | 214,52        | 213,75        | 230,63        | 212,39        | 218,75        | 214,90        |
| Израсходовано комбикормов за период опыта на начальное поголовье, кг | 473,90            | 473,90        | 473,90        | 473,90        | 473,90        | 473,90        | 473,90        | 473,90        | 473,90        |
| Производственные затраты, руб.                                       | 18013,89          | 18066,02      | 18037,58      | 18084,97      | 18037,58      | 18084,97      | 18051,80      | 18023,36      | 18023,36      |
| В том числе: стоимостные затраты на корма, руб.                      | 10596,40          | 10648,53      | 10620,10      | 10667,49      | 10620,10      | 10667,49      | 10634,32      | 10605,88      | 10605,88      |
| Дополнительные затраты на ферментные препараты, руб                  | -                 | 52,13         | 23,70         | 71,09         | 23,70         | 71,09         | 37,91         | 9,48          | 9,48          |
| Доход от реализации цыплят - бройлеров, руб.                         | 20769,15          | 22200,86      | 22659,84      | 22524,43      | 22443,56      | 24215,75      | 22300,99      | 22968,60      | 22564,26      |
| Общая прибыль, руб                                                   | 2755,26           | 4134,84       | 4622,26       | 4439,46       | 4405,98       | 6130,78       | 4249,19       | 4945,24       | 4540,89       |
| Дополнительная прибыль, руб                                          | -                 | 1379,58       | 1867,00       | 1684,20       | 1650,72       | 3375,52       | 1493,93       | 2189,98       | 1785,63       |
| Прибыль в расчете на 1000 голов, руб                                 | 27552,60          | 41348,40      | 46222,58      | 44394,61      | 44059,82      | 61307,82      | 42491,93      | 49452,36      | 45408,92      |
| Уровень рентабельности, %                                            | 15,30             | 22,89         | 25,63         | 24,55         | 24,43         | 33,90         | 23,54         | 27,44         | 25,19         |

Уровень рентабельности в 1-контрольной группе составил 15,30 %. Данный расчетный показатель в опытных группах был следующий: во 2-опытной группе - 22,89 %, в 3- опытной - 25,63 %, в 4- опытной - 24,55 %, в 5- опытной - 24,43 %, в 6- опытной - 33,90 %, в 7- опытной - 23,54 %, в 8- опытной - 27,44 % и в 9- опытной - 25,19 %, что было выше чем в контроле соответственно на 7,59 %, 10,33 %, 9,25 %, 9,13 %, 18,6 %, 8,24 %, 12,14 % и 9,89 %.

### **3.3 Эффективность использования мультиферментных добавок в кормлении цыплят-бройлеров (второй научно-хозяйственный опыт)**

#### **3.3.1 Условия кормления подопытных цыплят-бройлеров**

Для проведения второго научно-хозяйственного опыта были сформированы 4 группы цыплят-бройлеров (одна группа – контрольная, три группы – опытные). Птицу подбирали по методу аналогов по 120 голов в каждую группу (таблица 32).

Таблица 32 – Схема второго научно-хозяйственного опыта

| Показатель                   | Группа               |                                       |                                    |                               |
|------------------------------|----------------------|---------------------------------------|------------------------------------|-------------------------------|
|                              | Контрольная          | 1-опытная                             | 2-опытная                          | 3-опытная                     |
| Количество голов             | 120                  | 120                                   | 120                                | 120                           |
| Продолжительность дней опыта | 37                   | 37                                    | 37                                 | 37                            |
| Особенности кормления        | Основной рацион (ОР) | ОР + Ровабио Эксель 50 г/т комбикорма | ОР + Акстра ХАР 100 г/т комбикорма | ОР + Вилзим 20 г/т комбикорма |

Условия содержания, фронт кормления и поения, параметры микроклимата у всей подопытной птицы были идентичны и отвечали рекомендациям ВНИТИП и руководству по выращиванию кросса «Росс 308».

Основной рацион в 1 фазу кормления представлял собой комбикорм, в составе, которого были следующие компоненты: пшеница– 48,06%, кукуруза - 11,88%, шрот соевый - 17,86%, соевый концентрат - 12,03%, шрот подсолнечный – 2,87 %, масло соевое – 3,00%, премикс П5.1. - 2%, монокальций фосфат – 0,85%, лизин HCl 98% – 0,44%, известняк 37,4% - 0,31%, DL-метионин 99% - 0,27%, холин хлорид 60% - 0,20%, L-треонин 98%

- 0,10%, соль поваренная – 0,08%, сульфат натрия – 0,05%. В 100 граммах данного комбикорма содержалось 309,69 ккал обменной энергии и 23,05 % протеина (таблица 33).

Таблица 33 – Состав и питательная ценность комбикормов для цыплят бройлеров

| Наименование кормового сырья и кормовых добавок | Количество ввода, % |                  |                  |
|-------------------------------------------------|---------------------|------------------|------------------|
|                                                 | 1 фаза кормления    | 2 фаза кормления | 3 фаза кормления |
| Пшеница                                         | 48,06               | 49,14            | 44,27            |
| Кукуруза                                        | 11,88               | 8,08             | 12,06            |
| Горох                                           | -                   | 3,20             | 3,88             |
| Кукурузный глютен                               | -                   | 4,04             | -                |
| Шрот соевый                                     | 17,86               | 4,93             | 4,55             |
| Соевый концентрат                               | 12,03               | 11,75            | 8,52             |
| Шрот подсолнечный                               | 2,87                | 7,76             | 11,84            |
| Мука мясокостная                                | -                   | 1,00             | 2,05             |
| Дрожжи кормовые                                 | -                   | 2,49             | 2,55             |
| Масло соевое                                    | 3,00                | 3,45             | 6,66             |
| Премикс П5.1. 2%                                | 2,00                | -                | -                |
| Премикс П5.2. 2%                                | -                   | 2,00             | -                |
| Премикс П6.1. 2%                                | -                   | -                | 2,00             |
| Фосфат дефторированный                          | -                   | 1,29             | -                |
| Монокальций фосфат                              | 0,85                | -                | 0,66             |
| Лизин НС1 98%                                   | 0,44                | 0,52             | 0,26             |
| Известняк 37,4%                                 | 0,31                | -                | 0,28             |
| DL-Метионин 99%                                 | 0,27                | 0,18             | 0,15             |
| Холин хлорид 60%                                | 0,20                | 0,13             | 0,15             |
| L-Треонин                                       | 0,10                | 0,04             | 0,04             |
| Соль поваренная                                 | 0,08                | -                | 0,08             |
| Сульфат натрия                                  | 0,05                | -                | -                |
| В 100 граммах комбикорма содержится             |                     |                  |                  |
| ОЭ птицы, ккал                                  | 309,69              | 315,16           | 320,02           |
| Сырой протеин,%                                 | 23,05               | 21,06            | 20,03            |
| Сырой жир,%                                     | 4,91                | 5,69             | 8,53             |
| Сырая клетчатка,%                               | 3,62                | 3,9              | 4,01             |
| Линолевая кислота,%                             | 2,4                 | 2,76             | 4,29             |
| Лизин об.,%                                     | 1,41                | 1,25             | 1,18             |
| Лизин усв.,%                                    | 1,25                | 1,1              | 1,02             |
| Метионин об.,%                                  | 0,61                | 0,54             | 0,45             |
| Метионин усв.,%                                 | 0,56                | 0,48             | 0,4              |
| Мет+Цис об.,%                                   | 0,99                | 0,91             | 0,86             |
| Мет+Цис усв.,%                                  | 0,95                | 0,86             | 0,75             |

|                    |      |      |      |
|--------------------|------|------|------|
| Треонин об.,%      | 0,95 | 0,83 | 0,81 |
| Треонин усв.,%     | 0,83 | 0,73 | 0,69 |
| Триптофан об.,%    | 0,26 | 0,23 | 0,22 |
| Триптофан усв.,%   | 0,23 | 0,21 | 0,19 |
| Аргинин об.,%      | 1,47 | 1,31 | 1,09 |
| Аргинин усв.,%     | 1,28 | 1,13 | 0,95 |
| Валин об.,%        | 1,08 | 0,95 | 0,86 |
| Валин усв.,%       | 0,93 | 0,82 | 0,72 |
| Гистидин об.,%     | 0,49 | 0,45 | 0,42 |
| Гистидин усв.,%    | 0,42 | 0,38 | 0,36 |
| Глицин об.,%       | 1,05 | 0,96 | 0,91 |
| Глицин усв.,%      | 0,87 | 0,78 | 0,74 |
| Изолейцин об.,%    | 0,94 | 0,84 | 0,77 |
| Изолейцин усв.,%   | 0,78 | 0,72 | 0,64 |
| Лейцин об.,%       | 1,62 | 1,47 | 1,41 |
| Лейцин усв.,%      | 1,45 | 1,32 | 1,22 |
| Фенилаланин об.,%  | 0,82 | 0,74 | 0,69 |
| Фенилаланин усв.,% | 0,71 | 0,65 | 0,59 |
| Тирозин об.,%      | 0,7  | 0,66 | 0,62 |
| Тирозин усв.,%     | 0,62 | 0,56 | 0,53 |
| Кальций, %         | 1,00 | 0,90 | 0,91 |
| Фосфор об.,%       | 0,70 | 0,70 | 0,70 |
| Фосфор усв.,%      | 0,4  | 0,40 | 0,42 |
| Натрий, %          | 0,20 | 0,20 | 0,20 |
| Хлор, %            | 0,20 | 0,20 | 0,20 |

Основной рацион во 2 фазу кормления представлял собой комбикорм, в составе, которого были следующие компоненты: пшеница - 49,14%, кукуруза - 8,08%, горох – 3,20%, кукурузный глютен - 4,04%, шрот соевый – 4,93 %, соевый концентрат - 11,75 %, шрот подсолнечный – 7,76 %, мука мякостная - 1,00%, дрожжи кормовые - 2,49%, масло соевое – 3,45%, премикс П5.2. - 2,00%, фосфат дефторированный – 1,29%, лизин HCl 98% - 0,52%, DL-метионин 99% - 0,18 %, холин хлорид 60% - 0,13%, L-треонин 98% - 0,04%. %. В 100 граммах данного комбикорма содержалось 315,16 ккал обменной энергии и 21,06 % протеина.

Основной рацион в 3 фазу кормления представлял собой комбикорм, в составе, которого были следующие компоненты: пшеница – 44,27%, кукуруза

– 12,06%, горох – 3,88%, шрот соевый – 4,55 %, соевый концентрат – 8,52 %, шрот подсолнечный – 11,84 %, мука мяко костная – 2,05%, дрожжи кормовые - 2,55%, масло соевое – 6,66%, премикс П6.1. - 2,00%, монокальций фосфат – 0,66%, лизин HCl 98% – 0,26%, известняк 37,4% - 0,28%, DL-метионин 99% - 0,15%, холин хлорид 60% - 0,15%, L-треонин 98% - 0,04%, соль поваренная – 0,08%. В 100 граммах данного комбикорма содержалось 320,02 ккал обменной энергии и 20,03 % протеина.

### 3.3.2 Переваримость питательных веществ комбикорма, использование азота, кальция и фосфора и доступность аминокислот подопытными цыплятами-бройлерами

Качественный состав комбикорма характеризует его переваримость и использование питательных веществ в организме птицы [86, 67].

В связи с этим и был поставлен балансовый опыт на 6 головах бройлеров из каждой группы, результаты данного исследования представлены в таблице 34.

Таблица 34 - Переваримость и использование питательных веществ комбикорма ( $M \pm m$ ) ( $n=6$ )

| Группа      | Переваримость    |                    |                |                                        | Использование   |                |                |
|-------------|------------------|--------------------|----------------|----------------------------------------|-----------------|----------------|----------------|
|             | Сырой протеин, % | Сырая клетчатка, % | Сырой жир, %   | Безазотистые экстрактивные вещества, % | Азот, %         | Кальций, %     | Фосфор, %      |
| контрольная | 87,31<br>±0,46   | 20,16<br>±0,39     | 80,59<br>±0,58 | 88,41<br>±0,89                         | 39,52<br>±0,89  | 52,95<br>±0,69 | 56,03<br>±1,26 |
| 1-опытная   | 87,97<br>±0,43   | 20,45<br>±0,32     | 80,88<br>±0,48 | 89,61<br>±1,07                         | 40,45<br>±1,01  | 53,60<br>±0,89 | 56,48<br>±0,94 |
| 2-опытная   | 89,45<br>±0,29** | 21,25<br>±0,18*    | 81,77<br>±0,54 | 91,49<br>±0,63*                        | 42,71<br>±0,53* | 54,81<br>±0,53 | 57,29<br>±0,98 |
| 3-опытная   | 88,52<br>±0,37   | 20,8<br>±0,17      | 81,35<br>±0,47 | 90,96<br>±0,94                         | 41,45<br>±0,64  | 54,21<br>±0,74 | 56,79<br>±1,06 |

\* $P \geq 0,95$ ; \*\* $P \geq 0,99$ ; \*\*\* $P \geq 0,999$

На основании данных, приведенных в таблице, можно заключить следующее.

Птица получавшая на протяжении опыта к основному рациону ферментный препарат Акстра ХАР, показала лучшие результаты по переваримости и использованию питательных веществ по сравнению с аналогами из контроля, 1 и 3 опытной группами. Переваримость сырого протеина комбикорма в организме птицы 2-опытной группы составила – 89,45 %, что превзошло контроль на 2,14 % ( $P > 0,99$ ), 1-опытной – 87,97 %, и превосходило контрольную группу на 0,66 %, в 3-опытной – 88,52 %, что превосходит контрольную группу на 1,21 %.

Переварилось сырой клетчатки комбикорма в организме бройлеров контрольной группы на 20,16 %, в 1-опытной на 20,45 % и было выше контроля на 0,29 %, во 2-опытной - 21,25 %, что было выше чем в контроле на 1,09 % ( $P > 0,95$ ) и в 3-опытной – 20,80 %, что выше чем в контроле на 0,64 %.

За счет ввода в комбикорма ферментного препарата Ровабио Эксель у цыплят-бройлеров повысилась переваримость сырого жира на 0,29 % по сравнению с аналогами из контроля. Применение Акстра ХАР в комбикорме для цыплят –бройлеров увеличило переваримость сырого жира на 1,18 %, а препарата Вилзим – 0,76 % по сравнению с аналогами из контрольной группы.

БЭВ комбикорма в 1-, 2- и 3-опытной группах бройлеров переварилось больше чем в контроле на 1,20 %, 3,08 % и 2,55 %.

Использование азота кальция и фосфора в опытных группах птицы было выше чем в контроле, за счет введения исследуемых ферментных препаратов. Так при вводе в комбикорм фермента Ровабио Эксель азота из комбикорма в 1-опытной группе было использовано на 40,45 % и по сравнению с контролем было выше на 0,93 %. Использование в комбикорме фермента Акстра ХАР привело к лучшему использованию азота во 2-опытной группе птицы на 3,19 % ( $P > 0,95$ ) по соотнесению с контролем. Ввод добавки Вильзим в комбикорм увеличил использование азота на 1,93 % у цыплят-бройлеров 3-опытной группы по сравнению с контролем.

Использование кальция и фосфора в организме подопытных бройлеров было выше в опытных группах птицы, получавших в составе комбикормов

различные ферментные препараты. Так в 1-опытной группе использовано кальция и фосфора из комбикорма было выше, чем в контроле на 0,65 % и 0,45 %, во 2-опытной на 1,86 % и 1,26 % и 3-опытной – 1,26 % и 0,76 %.

Таким образом, ввод ферментных препаратов Ровабио Эксель, Акстра ХАР и Вилзим положительно сказывается на переваримости питательных веществ и использовании азота, кальция и фосфора.

По мнению Бурякова Н.П. «Обеспечение необходимого уровня полноценного протеина и аминокислот в рационах необходимо для хорошего роста, здоровья и высокой продуктивности сельскохозяйственной птицы. Зная показатели протеина и аминокислот кормовых средств и потребность птиц в отдельных аминокислотах, можно направленно регулировать протеиновое питание на уровне отдельных аминокислот и улучшать аминокислотный профиль рациона» [12, 75].

Таблица 35 – Доступность аминокислот, % (M±m) (n=6)

| Группа              | Лизин          | Метионин       | Аргинин         | Тирозин          | Фенилаланин    | Гистидин        | Лейцин+<br>изолейцин | Валин          | Треонин        | Глицин         | Триптофан      |
|---------------------|----------------|----------------|-----------------|------------------|----------------|-----------------|----------------------|----------------|----------------|----------------|----------------|
| контр<br>ольна<br>я | 86,11<br>±0,17 | 86,88<br>±0,25 | 85,45±<br>0,18  | 83,83±<br>0,14   | 84,18±<br>0,32 | 83,65±<br>0,17  | 86,76±<br>0,22       | 84,02±<br>0,33 | 85,18±<br>0,28 | 84,96±<br>0,49 | 85,14±<br>0,30 |
| 1-<br>опытн<br>ая   | 86,44<br>±0,22 | 87,03<br>±0,22 | 85,67±<br>0,20  | 83,96±<br>0,16   | 84,40±<br>0,23 | 83,81±<br>0,13  | 87,13±<br>0,30       | 84,19±<br>0,34 | 85,45±<br>0,25 | 85,47±<br>0,45 | 85,36±<br>0,21 |
| 2-<br>опытн<br>ая   | 86,64<br>±0,14 | 87,49<br>±0,16 | 86,22±<br>0,14* | 84,78±<br>0,14** | 84,71±<br>0,24 | 84,31±<br>0,11* | 87,49±<br>0,27       | 84,93±<br>0,23 | 85,96±<br>0,17 | 86,05±<br>0,40 | 85,52±<br>0,18 |
| 3-<br>опытн<br>ая   | 86,55<br>±0,17 | 87,22<br>±0,19 | 85,98±<br>0,21  | 84,25±<br>0,17   | 84,62±<br>0,19 | 84,02±<br>0,15  | 87,20±<br>0,20       | 84,58±<br>0,20 | 85,82±<br>0,22 | 85,67±<br>0,46 | 85,73±<br>0,17 |

\* P ≥ 0,95, \*\* P ≥ 0,99, \*\*\*P ≥ 0,999

Доступность аминокислот из комбикормов была выше опытных групп цыплят-бройлеров, чем у аналогов из контроля (таблица 35). Птица, получавшая в составе комбикорма фермент Ровабио Эксель, лучше использовала аминокислоты их комбикорма, чем аналоги из контроля, так

лизина на 0,33 %, метионина – 0,15 %. аргинина – 0,22 %, тирозина на 0,13 %, фенилаланина на 0,22 %, гистидина на 0,16 %, лейцина+ изолейцина на 0,37 %, валина на 0,17 %, треонина на 0,27 %, глицина на 0,51 % и триптофана на 0,22 %.

Ввод Акстра ХАР в комбикорм повысил доступность лизина на 0,53 %, метионина – 0,61 %. аргинина – 0,77 % ( $P > 0,95$ ), тирозина – 0,95 % ( $P > 0,99$ ), фенилаланина – 0,53 %, гистидина – 0,66 % ( $P > 0,95$ ), лейцина+ изолейцина – 0,73 %, валина – 0,91 %, треонина – 0,78 %, глицина – 1,09 % и триптофана – 0,38 % у птицы опытной группы по сравнению с контролем.

Цыплята, получавшие в составе опытных комбикормов ферментный препарат Вилзим отличались лучшей доступностью аминокислот по сравнению с аналогами из контроля, так лизина на 0,44 %, метионина – 0,34 %. аргинина – 0,53 %, тирозина – 0,42 %, фенилаланина – 0,44 %, гистидина – 0,37%, лейцина+ изолейцина – 0,44 %, валина – 0,56 %, треонина – 0,64 %, глицина – 0,71 % и триптофана – 0,59 %.

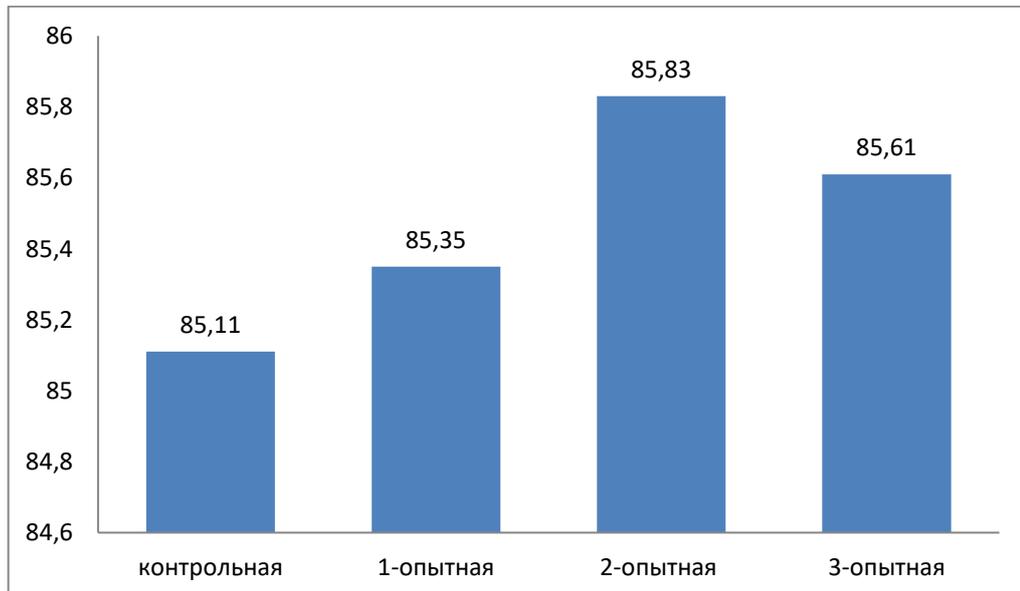


Рисунок 36 - Средняя доступность аминокислот, %

Средняя доступность аминокислот в 1-, 2- и 3-опытной группах составила 85,35 %, 85,83 % и 85,61 % соответственно и была выше, чем в контроле на 0,24 %, 0,72 % и 0,50 % (рисунок 36).

Таким образом, введение изучаемых ферментных препаратов Ровабио Эксель, Акстра ХАР и Вилзим в комбикорма для цыплят-бройлеров, оказало положительное влияние на переваримость питательных веществ и использование азота, кальция и фосфора.

### 3.3.3 Динамика живой массы подопытных цыплят-бройлеров

Интенсивность набора массы для откармливаемых на мясо животных и птиц имеет важное значение, именно по этому показателю судят о полноценности кормления [88, 18, 13].

Таблица 36 – Динамика живой массы подопытных цыплят-бройлеров, г  
( $M \pm m$ ) (n=120)

| Возраст, дни                          | Контрольная группа | 1-опытная группа | 2- опытная группа | 3-опытная группа |
|---------------------------------------|--------------------|------------------|-------------------|------------------|
| суточные                              | 60,04±0,16         | 60,19±0,19       | 60,11±0,17        | 60,12±0,14       |
| 7                                     | 220,33±2,08        | 222,35±2,06      | 224,61±1,74       | 222,33±2,02      |
| 14                                    | 538,19±9,18        | 547,27±8,64      | 552,80±8,42       | 546,42±7,72      |
| 21                                    | 1021,38±15,67      | 1055,79±15,38    | 1088,90±13,83*    | 1052,77±14,74    |
| 28                                    | 1623,54±17,23      | 1704,90±16,95*** | 1755,14±16,32***  | 1691,92±16,91**  |
| 35                                    | 2309,73±25,74      | 2456,80±24,83*** | 2469,19±24,15***  | 2442,89±24,46*** |
| 37                                    | 2502,20±26,67      | 2690,63±27,60*** | 2719,40±27,40***  | 2676,11±27,49*** |
| За период опыта                       |                    |                  |                   |                  |
| Общий прирост живой массы, кг         | 2440,16            | 2628,44          | 2657,29           | 2613,99          |
| Среднесуточный прирост живой массы, г | 65,95              | 71,04            | 71,82             | 70,65            |

\*  $P \geq 0,95$ , \*\*  $P \geq 0,99$ , \*\*\*  $P \geq 0,999$

Важно отметить, что при скармливании комбикорма с ферментом Акстра ХАР уже с 21-ой недели выращивания у подопытных цыплят наблюдалась достоверная разница по живой массе по сравнению с аналогами из контрольной группы (таблица 36). Живая масса в конце опыта у подопытной птицы в группе контрольной составила 2502,20 г, в 1-опытной – 2690,63 г, что превосходило контрольную на 188,43 г ( $P \geq 0,999$ ), во 2-опытной – 2719,40 г, что на 217,2 г ( $P \geq 0,999$ ) выше контрольной группы, в 3-опытной – 2676,11 г, что выше на 173,91 г ( $P \geq 0,999$ ) в сопоставлении с группой контрольной.

Общий прирост живой массы птицы в контрольной группе составил 2440,16 г, в 1-опытной – 2628,44 г, что на 188,28 г выше, чем в контроле, во 2-опытной – 2657,29 г и больше на 217,13 г, чем у контрольных аналогов, в 3-опытной – 2613,99 г и больше чем у группы контрольной на 173,83 г.

Средний суточный прирост живой массы в контрольной группе – 65,95 г, в 1-опытной – 71,04 г, во 2-опытной – 71,82 г, в 3-опытной – 70,65 г, разница в пользу опытных групп, в сопоставлении с контролем была соответственно 7,72 %, 8,90 % и 7,12 %.

Использование ферментных препаратов в составе комбикорма повышает интенсивность роста цыплят-бройлеров кросса «Росс 308».

### **3.3.4 Потребление разработанных комбикормов подопытными цыплятами-бройлерами**

Особенно важным зоотехническим показателем является потребление корма. Известно, что в структуре себестоимости затраты на комбикорма варьируют в пределах от 65 до 75 % [35, 89].

Так же прослеживается прямая взаимосвязь между потребленными комбикормами и интенсивностью роста.

За период опыта потребление комбикорма во всех подопытных группах было одинаковое и составило на одну голову птицы - 3584 кг. Затраты комбикорма на 1 кг прироста живой массы цыпленка бройлера в контрольной группе составили 1,47 кг. В 1-опытной группе данный показатель составил

1,36 кг, во 2-опытной - 1,35 кг и в 3-опытной – 1,37 кг, что было ниже, чем в контрольной группе на 0,11 кг или 7,16 %, 0,12 кг или 8,17 % и 0,10 кг и 6,65 % (рисунок 37).

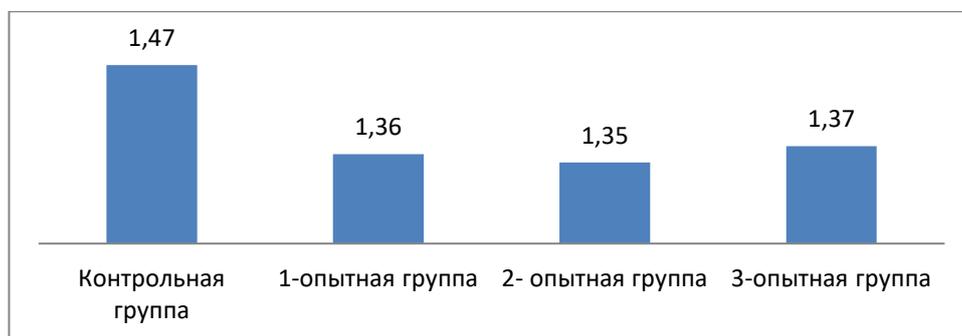


Рисунок 37 - Затрачено комбикорма на 1 кг прироста живой массы цыплят, кг

### 3.3.5 Морфологические и биохимические показатели крови цыплят-бройлеров

В живом организме кровь является уникальной системой, которая реагирует на малейшие изменения гомеостаза [36, 68].

Гематологический анализ - один из самых распространенных, используемый для оценки здоровья животных. Клеточный состав крови постоянен, поэтому различные отклонения говорят о возможных заболеваниях [14].

Таблица 37 – Гематологические показатели цыплят-бройлеров ( $M \pm m$ ) ( $n=6$ )

| Показатель                         | Референ-<br>тные<br>значения | Группа      |             |             |             |
|------------------------------------|------------------------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
|                                    |                              | контрольная | 1-опытная   | 2-опытная   | 3-опытная   |
| Гемоглобин, г/л                    | 81 – 110                     | 98,78±2,76  | 101,88±2,39 | 105,83±2,16 | 102,32±2,45 |
| Эритроциты,<br>млн/мкл             | 1,8 - 2,4                    | 2,28±0,06   | 2,37±0,07   | 2,50±0,05*  | 2,41±0,06   |
| Лейкоциты, 10 <sup>9</sup> /л      | 20 – 45                      | 23,82±0,83  | 23,57±0,80  | 23,36±0,88  | 23,60±0,77  |
| Общий белок, г/л                   | 29 – 40                      | 39,72±0,52  | 39,97±0,45  | 40,36±0,49  | 40,04±0,41  |
| Глюкоза, ммоль/л                   | 9 – 15                       | 10,50±0,33  | 10,13±0,35  | 9,54±0,31   | 9,87±0,38   |
| Общий<br>холестерин,<br>ммоль/л    | 2 – 3                        | 3,58±0,10   | 3,21±0,12   | 3,35±0,11   | 3,75±0,10   |
| Кальций, ммоль/л                   | 2,5 - 3,5                    | 3,13±0,13   | 3,18±0,12   | 3,26±0,17   | 3,20±0,18   |
| Фосфор, ммоль/л                    | 2 – 3                        | 3,01±0,18   | 3,05±0,14   | 3,14±0,19   | 3,04±0,20   |
| Кальций-<br>фосфорное<br>отношение | 1,0 - 1,3                    | 1,04±0,03   | 1,04±0,01   | 1,04±0,01   | 1,05±0,02   |

\*  $P \geq 0,95$ , \*\*  $P \geq 0,99$ , \*\*\* $P \geq 0,999$

Содержание гемоглобина в крови бройлеров в контрольной группе – 98,78 г/л, в 1-опытной – 101,88 г/л, что на 3,1 г/л больше, чем у контрольных птиц, во 2- опытной – 105,83 г/л, превосходя на 7,05 г/л, в 3- опытной – 102,32 г/л, и превосходя на 3,54 г/л бройлеров из группы контрольной (таблица 37).

В ходе опыта установлено, что наиболее высокое содержание эритроцитов в крови бройлеров было в группе 2-опытной и достоверная разница с контрольной была при  $P > 0,95$ .

Лейкоцитов в крови птиц контрольной группы –  $23,82 \times 10^9$ /л, 1- опытной –  $23,57 \times 10^9$ /л, 2- опытной –  $23,36 \times 10^9$ /л, 3- опытной –  $23,60 \times 10^9$ /л, разница с контролем была ниже в опытных группах соответственно  $0,25 \times 10^9$ /л,  $0,46 \times 10^9$ /л и  $0,22 \times 10^9$ /л.

Общего белка в крови цыплят-бройлеров опытных групп было выше чем в контроле, так в 1- опытной на 0,25 г/л, 2-опытной – 0,64 г/л, 3- опытной – 0,32 г/л.

Снижение содержания глюкозы в крови говорит о лучшем протекании углеводного обмена в организме птицы. Так в 1-, 2- и 3-опытной группах бройлеров было отмечено снижение уровня глюкозы на 0,37 ммоль/л, 0,96 ммоль/л и 0,63 ммоль/л в сравнении с контролем.

Общего холестерина в крови бройлеров опытных групп было меньше чем в контроле на 0,17-0,37 ммоль/л.

Кальция и фосфора в крови птицы группы 1-опытной содержалось – 3,18 ммоль/л и 3,04 ммоль/л, и превосходило в сопоставлении с контрольными бройлерами на 0,04 ммоль/л и 0,04 ммоль/л, в группе 2- опытной – 3,26 ммоль/л и 3,14 ммоль/л, и оказалось выше контроля на 0,13 ммоль/л и 0,13 ммоль/л, в 3- опытной группе – 3,20 ммоль/л и 3,04 ммоль/л, и превзошло птиц из контроля на 0,07 ммоль/л и 0,03 ммоль/л.

Кальциево-фосфорное отношение в крови цыплят во всех подопытных группах было в пределах нормы.

Таким образом, изучаемые добавки в комбикормах не оказали негативного влияния на гематологические показатели бройлеров. При этом было отмечено увеличение некоторых показателей крови, что говорит о интенсивном метаболизме в организме птицы.

### 3.3.6 Мясная продуктивность подопытных цыплят-бройлеров

Известно, что в питании человека огромная роль отведена полноценному белку животного происхождения [58, 49].

Отрасль птицеводства является крупнейшим производителем данного компонента для рациона человека [90, 190].

По сравнению с другими отраслями птицеводство обеспечивает быстрый рост производства при меньших в сопоставлении с другими отраслями затратах на комбикорма, средств и труда на единицу продукции [57, 59].

В связи с вышесказанным, нами был проведен убой 6 голов цыплят-бройлеров в конце опыта (возраст птицы 37 дней). Анатомическая разделка тушек птицы приведена в таблице 38.

Таблица 38 - Анатомическая разделка тушек цыплят-бройлеров

( $M \pm m$ ) (n=6)

| Показатель                       | Группа       |                 |                 |                 |
|----------------------------------|--------------|-----------------|-----------------|-----------------|
|                                  | контрольная  | 1-опытная       | 2-опытная       | 3- опытная      |
| Живая масса птицы перед убоем, г | 2511,36±5,53 | 2690,68±4,71*** | 2723,35±5,24*** | 2676,79±5,06*** |
| Тушка бройлера потрошенная, г    | 1860,62±6,04 | 1995,76±6,13*** | 2023,34±5,87*** | 1984,94±6,62*** |
| Убойный выход, %                 | 74,09±0,08   | 74,19±0,07      | 74,28±0,08      | 74,15±0,11      |
| Масса мышц, г:                   |              |                 |                 |                 |
| грудка                           | 607,23±2,47  | 654,75±2,25***  | 664,47±2,32***  | 649,37±2,50***  |
| бедро                            | 260,87±1,71  | 283,17±1,74***  | 289,69±1,85***  | 279,30±1,62***  |
| голень                           | 145,38±1,36  | 159,84±1,39***  | 163,06±1,51***  | 156,88±1,47**   |
| Выход мышц, % от живой массы     |              |                 |                 |                 |
| грудка                           | 24,18±0,05   | 24,33±0,04      | 24,40±0,04**    | 24,26±0,05      |
| бедро                            | 10,39±0,05   | 10,52±0,05      | 10,64±0,05**    | 10,43±0,04      |
| голень                           | 5,79±0,04    | 5,94±0,04**     | 5,99±0,04**     | 5,86±0,04       |

\* P ≥ 0,95, \*\* P ≥ 0,99, \*\*\* P ≥ 0,999

Вес потрошенной тушки в контрольной группе составил 1860,62 кг, в 1-опытной, 2-опытной и 3-опытной группах был на уровне 1995,76 кг, 2023,34 кг, 1984,94 кг полученная разница была в пользу 1, 2 и 3 группы 179,32 кг (7,14 %), 211,99 кг (8,44 %) кг и 165,43 кг (6,59 %).

Убойный выход в группе контроля был на уровне 74,09 %, в 1-опытной, 2-опытной и в 3-опытной – 74,19 %, 74,28 %, 74,15 % разница с контролем составила 0,1 %; 0,19 % и 0,06 %.

Важно подчеркнуть, что масса мышц грудки, бедра и голени в контрольной группе составила соответственно 607,23 г, 260,87 г и 145,38 г

Цыплята, которым скармливали в составе комбикорма фермент Ровабио Эксель, отличались по сравнению с аналогами из контроля большим выходом мяса грудки, бедра и голени соответственно на 0,15 %, 0,13 % и 0,15 %. Птица, которой скармливали с комбикормом добавку Акстра ХАР, в отличие от аналогов из контроля имела больше на 0,22 %, 0,25 % и 0,20 % выход мяса грудки, бедра и голени. Цыплята, получавшие в составе опытных комбикормов ферментный препарат Вилзим отличались лучшим выходом мяса по сравнению с аналогами из контроля, так мяса грудки на 0,08 %, мяса бедра – 0,04 % и мяса голени – 0,07 %.

Применение в комбикормах для мясной птицы ферментных препаратов Ровабио Эксель, Акстра ХАР и Вилзим положительно воздействовало на относительную массу внутренних органов (таблица 39).

Таблица 39 - Относительная масса некоторых внутренних органов подопытной птицы, % ( $M \pm m$ ) (n=6)

| Показатель       | Группа      |             |             |             |
|------------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
|                  | контрольная | 1-опытная   | 2-опытная   | 3- опытная  |
| Мышечный желудок | 1,21±0,10   | 1,27±0,08   | 1,33±0,06   | 1,24±0,07   |
| Печень           | 1,93±0,12   | 1,96±0,11   | 1,99±0,07   | 1,95±0,10   |
| Сердце           | 0,52±0,05   | 0,53±0,04   | 0,52±0,03   | 0,51±0,04   |
| Легкие           | 0,56±0,02   | 0,63±0,012  | 0,62±0,009  | 0,60±0,011  |
| Почки            | 0,52±0,013  | 0,62±0,012  | 0,59±0,009  | 0,56±0,010  |
| Селезенка        | 0,057±0,007 | 0,060±0,007 | 0,063±0,008 | 0,062±0,006 |

Таким образом, введение в комбикорма ферментных препаратов положительно сказывается на мясной продуктивности цыплят-бройлеров.

### 3.3.7 Химический состав, энергетическая ценность и аминокислотный состав мышц цыплят-бройлеров

Дальнейшее развитие мясного рынка на сегодняшний день невозможно без птицеводства [39].

Мясо птицы по сравнению с другими видами животноводческой продукции отличается довольно низкой стоимостью для потребителя. Качество мяса находится в зависимости от наследственных факторов (вид, порода, линия, кросс, пол и возраст) и внешней среды — полноценное кормление животных и птицы [37].

Нами был изучен химический и аминокислотный составы грудных и бедренных мышц и приведен в таблицах 40-43.

Таблица 40 – Химический состав грудных мышц, % ( $M \pm m$ ) (n=6)

| Группа      | Вода           | Сухое вещество | Белок          | Жир           | Неорганическое вещество | Калорийность    |
|-------------|----------------|----------------|----------------|---------------|-------------------------|-----------------|
| контрольная | 75,07<br>±0,15 | 24,93<br>±0,15 | 20,09<br>±0,11 | 4,11<br>±0,06 | 0,75<br>±0,03           | 120,34<br>±0,64 |
| 1-опытная   | 75,18<br>±0,16 | 24,83<br>±0,16 | 20,15<br>±0,09 | 3,88<br>±0,08 | 0,79<br>±0,05           | 118,75<br>±1,03 |
| 2-опытная   | 74,88<br>±0,11 | 25,12<br>±0,11 | 20,25<br>±0,14 | 4,00<br>±0,12 | 0,86<br>±0,06           | 120,27<br>±0,54 |
| 3-опытная   | 75,15<br>±0,17 | 24,85<br>±0,17 | 20,21<br>±0,06 | 3,85<br>±0,10 | 0,79<br>±0,07           | 118,67<br>±1,25 |

Содержание белка в грудных мышцах 1-, 2- и 3-опытной групп было выше, в соизмерении с контрольной на 0,06 %, 0,16 % и 0,12 % соответственно. В грудных мышцах тушек птицы контрольной группы содержание белка составило 20,09 %.

При этом было отмечено снижение жира в грудных мышцах тушек опытных групп по сравнению с контролем от 0,11 до 0,26 %. В грудных мышцах тушек из контрольной группы жира содержалось 4,11 %.

В контрольной группе содержание неорганического вещества в грудной мышце было на уровне 0,75 %, в 1-опытной – 0,79 %, что выше, в сопоставлении с контрольной группой на 0,04 %, во 2-опытной – 0,86 %, превзойдя контроль на 0,11 %, в 3-опытной – 0,79 %, что на 0,04 % выше, чем в контрольной группе.

За счет меньшего содержания жира в грудке птицы отмечалось снижение калорийности в опытных группах по сравнению с контролем на 0,07-1,67 ккал.

Таблица 41– Химический состав бедренных мышц ( $M \pm m$ ) ( $n=6$ )

| Группа      | Вода                | Сухое вещество      | Белок               | Жир                  | Неорганическое вещество | Калорийность          |
|-------------|---------------------|---------------------|---------------------|----------------------|-------------------------|-----------------------|
| контрольная | 68,73<br>$\pm 0,18$ | 31,27<br>$\pm 0,18$ | 19,50<br>$\pm 0,11$ | 10,74<br>$\pm 0,132$ | 1,03<br>$\pm 0,02$      | 179,8<br>7 $\pm 1,33$ |
| 1-опытная   | 68,80<br>$\pm 0,46$ | 31,20<br>$\pm 0,46$ | 19,52<br>$\pm 0,15$ | 10,61<br>$\pm 0,18$  | 1,07<br>$\pm 0,04$      | 178,72<br>$\pm 2,85$  |
| 2-опытная   | 68,61<br>$\pm 0,20$ | 31,39<br>$\pm 0,20$ | 19,64<br>$\pm 0,08$ | 10,66<br>$\pm 0,15$  | 1,09<br>$\pm 0,01^*$    | 179,67<br>$\pm 1,38$  |
| 3-опытная   | 68,71<br>$\pm 0,35$ | 31,30<br>$\pm 0,35$ | 19,55<br>$\pm 0,14$ | 10,70<br>$\pm 0,18$  | 1,05<br>$\pm 0,06$      | 179,67<br>$\pm 2,07$  |

\*  $P \geq 0,95$ , \*\*  $P \geq 0,99$ , \*\*\*  $P \geq 0,999$

Содержание белка и неорганического вещества в бедренных мышцах бройлеров в группе контрольной составило 19,50 и 1,03 %, а в 1-, 2- и 3-опытной соответственно 19,52 % и 1,07 %, 19,64 % и 1,09 % и 19,55 % и 1,05 % и было выше, чем в контроле на 0,02 % и 0,04 %, 0,14 % и 0,06 % и 0,05 % и 0,02 %.

Содержание жира в бедренных мышцах тушек опытных групп было ниже контроля на 0,13 %, 0,08 % и 0,04 %, соответственно.

Калорийность бедренных мышц цыплят подопытных групп колебалась от 179,67 до 179,87 ккал.

Таблица 42 – Аминокислотный состав грудных мышц, г ( $M \pm m$ ) (n=6)

| Аминокислота | Группа        |               |               |               |
|--------------|---------------|---------------|---------------|---------------|
|              | контрольная   | 1-опытная     | 2-опытная     | 3-опытная     |
| Arg          | 1240,24±23,19 | 1250,02±17,96 | 1255,96±17,84 | 1252,45±22,76 |
| Lys          | 1765,54±13,48 | 1779,4±12,68  | 1785,57±12,03 | 1783,99±14,83 |
| Tyr          | 762,26±7,27   | 767,86±7,44   | 771,02±6,67   | 768,02±6,07   |
| Phe          | 805,09±12,73  | 814,76±11,96  | 821,67±13,38  | 817,16±12,38  |
| His          | 1067,99±14,51 | 1073,13±18,09 | 1081,78±14,34 | 1080,19±14,62 |
| Leu+Ile      | 2626,01±22,53 | 2636,34±27,78 | 2643,58±24,41 | 2638,55±28,75 |
| Met          | 650,19±8,40   | 658,28±8,94   | 663,52±9,55   | 661,30±8,49   |
| Val          | 1047,08±16,56 | 1056,53±17,43 | 1064,73±16,23 | 1059,54±16,59 |
| Pro          | 904,64±8,24   | 911,99±8,53   | 913,08±7,62   | 913,97±7,81   |
| Thr          | 306,61±4,20   | 315,34±3,90   | 320,86±4,97   | 317,29±3,3    |
| Ser          | 862,86±8,00   | 867,41±9,72   | 873,32±8,83   | 869,71±8,78   |
| Ala          | 1270,05±16,70 | 1276,57±14,77 | 1287,79±16,57 | 1279,76±14,26 |
| Gly          | 1387,22±15,11 | 1399,58±16,04 | 1404,27±14,44 | 1401,33±13,64 |

Аминокислотный состав грудных мышц бройлеров, получавших с комбикормами ферментные препараты Ровабио Эксель, Акстра ХАР и Вилзим, был выше чем у аналогов из контроля, так аргинина на 9,78-15,72 г, лизина - 13,86-20,03 г, тирозина 5,6-8,76 г, фенилаланина 9,67-16,58 г, гистидина 5,14-13,79 г, лейцина и изолейцина -10,33-17,57 г, метионина - 8,09-13,33 г, валина - 9,45-17,65 г, пролина - 7,35-9,33 г, триптофана - 8,73-14,25 г, серина - 4,55-10,46 г, аланина - 6,52-17,74 г, глицина -12,36-17,05 г.

Таблица 43 – Аминокислотный состав бедренных мышц, г ( $M \pm m$ ) (n=6)

| Аминокислота | контрольная   | 1-опытная     | 2-опытная     | 3-опытная     |
|--------------|---------------|---------------|---------------|---------------|
| Arg          | 1182,75±24,20 | 1190,72±22,71 | 1198,18±22,42 | 1195,02±20,30 |
| Lys          | 1479,78±18,25 | 1485,23±16,97 | 1490,63±18,29 | 1488,88±16,41 |
| Tyr          | 683,51±7,80   | 689,96±7,23   | 692,27±6,9    | 687,77±6,17   |
| Phe          | 865,46±11,20  | 868,28±10,37  | 881,43±10,33  | 874,21±9,24   |
| His          | 682,18±7,70   | 687,18±7,25   | 692,42±6,09   | 688,59±6,08   |
| Leu+Ile      | 2178,78±17,68 | 2186,29±19,51 | 2205,00±16,30 | 2188,69±17,49 |
| Met          | 568,39±4,56   | 573,36±4,31   | 581,09±4,72   | 576,57±4,25   |
| Val          | 795,62±9,43   | 800,71±11,14  | 807,75±9,63   | 804,10±10,08  |
| Pro          | 829,09±9,41   | 834,70±9,62   | 839,11±9,91   | 836,89±10,74  |
| Thr          | 304,91±6,69   | 309,82±7,25   | 317,32±6,06   | 313,45±7,40   |
| Ser          | 693,66±9,57   | 699,61±9,30   | 703,86±8,88   | 702,62±9,44   |
| Ala          | 1074,93±10,97 | 1082,93±10,10 | 1090,23±11,67 | 1075,35±12,87 |
| Gly          | 1018,60±10,23 | 1023,31±10,05 | 1032,29±9,75  | 1027,53±11,29 |

Аминокислотный состав бедренных мышц бройлеров, которым скармливали с комбикормом изучаемые ферментные препараты превосходил аналогов из контроля, по аргинину на 7,97-15,43 г, лизину - 5,45-10,85 г, тирозину 4,26-8,76 г, фенилаланину 2,82-15,97 г, гистидину - 5,00-10,24 г, лейцину и изолейцину - 7,51-26,22 г, метионину - 4,97-12,7 г, валину - 5,09-12,13 г, пролину - 5,61-10,02 г, триптофану - 4,91-12,41 г, серину - 5,95-10,2 г, аланину - 0,42-15,3 г, глицину - 4,71-13,69 г.

Актуальной по-прежнему остается контроль безопасности продуктов питания – как одного из факторов, определяющих здоровье людей. Содержание тяжелых металлов в мышцах цыплят-бройлеров представлено в таблице 44.

Таблица 44 — Содержание тяжелых металлов в мышцах птицы,  
мг/кг ( $M \pm m$ ) ( $n = 6$ )

| Группы<br>подопытные | Массовая доля: |                          |          |         |        |
|----------------------|----------------|--------------------------|----------|---------|--------|
|                      | свинца         | ртути                    | кобальта | мышьяка | кадмия |
| Контрольная          | 0,132±0,004    | ниже предела обнаружения |          |         |        |
| 1-опытная            | 0,130±0,006    | ниже предела обнаружения |          |         |        |
| 2-опытная            | 0,131±0,003    | ниже предела обнаружения |          |         |        |
| 3-опытная            | 0,132±0,007    | ниже предела обнаружения |          |         |        |

В мясе птицы подопытных групп содержание ртути, кобальта, мышьяка и кадмия было ниже предела обнаружения. Содержание свинца в мясе бройлеров контрольной и опытной групп было отмечено ниже предельно допустимой концентрации и составило 0,130-0,132 мг/кг.

Таким образом, ввод изучаемых ферментных препаратов в комбикорма для мясной птицы улучшил качественные показатели мяса.

### 3.3.8 Органолептическая оценка мяса цыплят-бройлеров опытных групп

Качество мяса определяют как по его питательной ценности, так и по органолептическим свойствам (таблица 45).

Общая дегустационная оценка вареного, жареного мяса и бульона в опытных группах была выше, чем в контрольной группе. Так

органолептическая оценка жареных грудных мышц бройлеров опытных групп находилась в пределах от 17,00 до 19,00 баллов, жареных бедренных мышц – 19,00-20,00, вареных грудных мышц – 19,00, вареных бедренных мышц 19,00-20,00. В контрольной и 1-опытной группах общая оценка бульона была 19,00 баллов, во 2- и 3-опытной группах – 20,00.

Таблица 45 – Общая дегустационная оценка бульона и мяса, баллы

| Показатель      | Группа      |            |            |            |
|-----------------|-------------|------------|------------|------------|
|                 | Контрольная | 1-опытная  | 2-опытная  | 3- опытная |
| Мясо жареное    |             |            |            |            |
| Мышцы грудные   | 16,00±0,24  | 17,00±0,28 | 19,00±0,33 | 18,00±0,30 |
| Мышцы бедренные | 18,00±0,14  | 19,00±0,17 | 20,00±0,25 | 19,00±0,23 |
| Мясо вареное    |             |            |            |            |
| Мышцы грудные   | 18,00±0,28  | 19,00±0,25 | 19,00±0,28 | 19,00±0,29 |
| Мышцы бедренные | 19,00±0,22  | 20,00±0,26 | 20,00±0,33 | 19,00±0,29 |
| Бульон          | 19,00±0,40  | 19,00±0,71 | 20,00±0,16 | 20,00±0,33 |

Таким образом, введение изучаемых препаратов положительно сказалось на дегустационной оценке мяса и бульона.

### 3.3.9 Исследования микробиоты кишечника цыплят-бройлеров

Птицеводство в настоящее время является наиболее эффективной системой животноводства и составляет основу глобального производства белка [15, 38].

Интенсивный процесс селекции, проводимый в течение последних десятилетий, привел к получению цыплят, которые эффективно превращают корм в мышечную массу, что делает их эффективной системой для производства высококачественного белка.

Извлечение энергии и питательных веществ из пищи требует взаимодействия между биохимическими функциями птицы и микробиотой, присутствующей в желудочно-кишечном тракте [190, 85].

Микробиота определяется как микробное сообщество, включающее комменсальные, симбиотические и патогенные микроорганизмы, которые обычно колонизируют область организма человека и животных, и примерно в 2 раза более многочисленны, чем соматические и зародышевые клетки хозяина. Коллективный геном этих симбионтов известен как микробиом [63].

Установлено, что отбор полезной микробиоты играет важную роль в производстве, здоровье, защите от патогенов, детоксикации и модуляции иммунной системы [117].

Согласно данным Е.В. Зинченко, А.Н. Панина (2000) «...В зобе птицы или желудке с верхним отделом тонкого кишечника содержится  $10^3$  КОЕ/мл содержимого, в нижнем отделе тонкого кишечника –  $10^5$ – $10^6$  КОЕ/мл, в толстом кишечнике и слепых отростках – до  $10^{12}$  КОЕ/мл» [34].

В норме такая разнообразная микробная популяция представляет собой относительный симбиоз и находится в динамическом равновесии, когда патогенные виды не являются преобладающими. Полезная и условно-патогенная микрофлора как две группы по отношению к хозяину действуют различно при определенных физиологических изменениях организма.

На активность пищеварительных ферментов в кишечнике цыплят также может влиять кишечная микробиота. При сравнении активности фермента щелочной фосфатазы у стерильных цыплят и цыплят, выращенных традиционным способом, последние проявляют более высокую ферментативную активность.

Диета также может стимулировать рост некоторых бактерий, таких как *Bifidobacterium* и *Lactobacillus*, которые способствуют повышению ферментативной активности протеаз, трипсина и липаз.

В связи с этим, по окончании технологического периода выращивания были определены уровни микробиоты ЖКТ (желудочно-кишечного тракта) подопытной птицы мясного направления продуктивности (таблица 46).

Таблица 46 – Полученные результаты исследования микробиома цыплят-бройлеров (КОЕ/г), при использовании в комбикормах ферментных препаратов Ровабио Эксель, Акстра ХАР и Вилзим

| Показатель                 | Группа                |                       |                        |                       |
|----------------------------|-----------------------|-----------------------|------------------------|-----------------------|
|                            | Контрольная           | 1-опытная             | 2-опытная              | 3- опытная            |
| Lactobacillus              | 4,57x10 <sup>9</sup>  | 5,62 x10 <sup>9</sup> | 5,93 x10 <sup>9</sup>  | 4,91 x10 <sup>9</sup> |
| Bifidumbacterinum          | 3,10 x10 <sup>9</sup> | 3,70 x10 <sup>9</sup> | 4,45 x10 <sup>10</sup> | 3,95 x10 <sup>9</sup> |
| Enterobacteriaceae         | 2,41 x10 <sup>9</sup> | 2,20 x10 <sup>8</sup> | 1,79 x10 <sup>8</sup>  | 2,26 x10 <sup>9</sup> |
| E. coli                    | 3,55 x10 <sup>7</sup> | 2,48 x10 <sup>6</sup> | 1,75 x10 <sup>6</sup>  | 3,11 x10 <sup>6</sup> |
| Плесневелые грибы и дрожжи | 6,80 x10 <sup>8</sup> | 5,96 x10 <sup>6</sup> | 5,40 x10 <sup>6</sup>  | 6,21 x10 <sup>7</sup> |

Данные, представленные в таблице, указывают на то, что по окончании периода откорма птицы, в течение которого цыплятам-бройлерам в комбикорма задавались ферментные препараты Ровабио Эксель (1-опытная группа), Акстра ХАР (2-опытная группа) и Вилзим (3-опытная группа), отмечено увеличение количества КОЕ в 1 г содержимого кишечника бактерий рода *Lactobacillus* (лактобактерий) с 4,57 x10<sup>9</sup> КОЕ/г (контрольная группа) до 5,93 x10<sup>9</sup> (2-опытная группа).

Данное заключение является благоприятной тенденцией, так как молочная кислота, вырабатываемая данными бактериями, понижает уровень кислотности (рН) до 4,0-4,5 что, тем самым, способствует сокращению роста и размножения гнилостной микрофлоры, подавляя развитие патологических изменений в желудочно-кишечном тракте.

Ферментный препарат Акстра ХАР наиболее сильно простимулировал активизацию и развитие бактерий рода *Lactobacillus* (лактобактерий) группе 2-опытная.

Аналогичная тенденция, по увеличению биомассы бактерий рода *Bifidumbacterinum* наблюдалась в опытных группах, в рацион которых вводили ферментные препараты Ровабио Эксель (1 –опытная группа), Акстра ХАР (2-опытная группа) и Вилзим (3-опытная группа), по сравнению с достигнутыми результатами в контрольной группе.

Результаты настоящего исследования свидетельствуют о том, что по совокупности количества КОЕ в 1 г содержимого кишечника рода *Lactobacillus* и рода *Bifidumbacterinum* бактерий - они превосходят количество бактерий семейства *Enterobacteriaceae*, что позволяет делать оптимистичный прогноз.

При состояниях микрофлоры, когда отмечается превосходство лакто- и бифидобактерий в микробиоте над уровнем условно-патогенных микроорганизмов - сельхозтоваропроизводители может рассчитывать на дополнительные приросты живой массы, оптимизацию переваривания и усвоения корма, активизацию метаболических процессов в организме, а, следовательно, снижение падежа и выбраковки молодняка от болезней незаразной этиологии.

Количество КОЕ в 1 г содержимого кишечника представителей семейства *Enterobacteriaceae*, при воздействии ферментных препаратов в опытных группах сократилось по сравнению с контрольной группой.

Нами отдельно было определено количество колониеобразующих единиц представителей вида *E.coli*, которые являются частью микробиома сем. *Enterobacteriaceae* и отдельные штаммы которых, при неблагоприятных условиях, могут являться возбудителями заболеваний органов пищеварения.

Введение в рационы цыплят-бройлеров кросса «Росс-308» ферментных препаратов способствовало очевидному снижению уровня *E.coli*, в опытных группах - в 1,7-1,9 раза.

Такое изменение в количественном составе является благоприятным фактором, так как снижаются риски поражения эпителиоцитов, вызванных развитием дисбактериоза, усилением моторики кишечника, снижением неспецифических факторов защиты слизистого слоя кишечника и созданием условий для развития нежелательных микроорганизмов.

Дрожжи и плесневые грибы относят к сапрофитной микрофлоре кишечника птицы. Дрожжеподобные грибы рода *Candida* являются условно патогенными микроорганизмами и наличие микроскопических грибов не

является признаком болезни. Преобладание условно-патогенной микрофлоры может способствовать повреждению энтероцитов и развитию патологических процессов в желудочно - кишечном тракте, приводящих к повышению кишечной проницаемости для макромолекул, изменению моторики, снижению защитных свойств слизистого барьера и созданию условий для развития патогенных микроорганизмов.

Самым выразительным было снижение количества дрожжей и плесневых грибов в желудочно-кишечном тракте опытных цыплят.

Данный факт не может не свидетельствовать о благоприятном воздействии дополнительного применения ферментных препаратов Ровабио Эксель, Акстра ХАР и Вилзим.

Для диагностических целей особое значение имеет соотношение количественного состава дрожжей и плесневых грибов по сравнению с другими микробами кишечника. По совокупности полученных фактических данных видно, что в опытных группах комплекс *Lactobacillus* + *Bifidumbacterinum* в 5-7 раз превышает долю комплекса *Enterobacteriaceae* + Плесневые грибы+Дрожжи, что может являться свидетельством фактического улучшения количественного и качественного состава микробиоты подопытных цыплят-бройлеров.

### **3.3.10 Экономическая эффективность использования ферментных препаратов в комбикормах цыплят-бройлеров**

Расчет экономической эффективности при выращивании цыплят-бройлеров за счет применения тех или иных добавок в кормлении животных и птицы является ключевым фактором (таблица 47) [66, 44].

Валовый выход мяса в группах бройлеров, получавших мультиферментные препараты Ровабио Эксель, Акстра ХАР и Вилзим в составе комбикорма, был выше, чем в контрольной группе на 17,67 кг, 20,90 и 16,41 кг.

Таблица 47 - Экономическая эффективность использования ферментных препаратов Ровабио Эксель, Акстра ХАР и Вилзим в комбикормах цыплят-бройлеров

| Показатель                                                                 | Группа            |               |               |               |
|----------------------------------------------------------------------------|-------------------|---------------|---------------|---------------|
|                                                                            | 1-<br>Контрольная | 2-<br>Опытная | 3-<br>Опытная | 4-<br>Опытная |
| Поголовье на начало опыта, гол                                             | 120,00            | 120,00        | 120,00        | 120,00        |
| Поголовье на конец опыта, гол                                              | 116,00            | 117,00        | 117,00        | 117,00        |
| Процент сохранности поголовья, %                                           | 96,67             | 97,50         | 97,50         | 97,50         |
| Средний вес одной головы бройлера, г                                       | 2502,2            | 2690,63       | 2719,4        | 2676,11       |
| Вес тушки потрошенной, г                                                   | 1860,62           | 1995,76       | 2023,34       | 1984,94       |
| Всего получено мяса (выход валовой), кг                                    | 215,83            | 233,50        | 236,73        | 232,24        |
| Израсходовано всего комбикормов за период опыта на начальное поголовье, кг | 430,08            | 430,08        | 430,08        | 430,08        |
| Производственные затраты, руб.                                             | 23813,10          | 23851,81      | 23886,21      | 23821,70      |
| В том числе: стоимостные затраты на корма, руб.                            | 14007,71          | 14046,41      | 14080,82      | 14016,31      |
| Дополнительные затраты на ферментные препараты, руб                        | -                 | 38,71         | 73,11         | 8,60          |
| Доход от реализации цыплят - бройлеров, руб.                               | 26547,33          | 28720,98      | 29117,89      | 28565,27      |
| Общая прибыль, руб                                                         | 2734,23           | 4869,18       | 5231,67       | 4743,57       |
| Дополнительная прибыль, руб                                                |                   | 2134,95       | 2497,45       | 2009,34       |
| Прибыль в расчете на 1000 голов, руб                                       | 22785,22          | 40576,46      | 43597,27      | 39529,75      |
| Уровень рентабельности, %                                                  | 11,48             | 20,41         | 21,90         | 19,91         |

Дополнительные затраты на ферментные препараты Ровабио Эксель, Акстра ХАР и Вилзим в опытных группах бройлеров были соответственно 38,71 руб., 73,11 руб. и 8,60 руб.

Производственные затраты за период проведения опыта в контрольной группе бройлеров составили 23813,10 руб., во 2-опытной группе - 23851,81 руб., в 3- опытной - 23886,21 руб., в 4- опытной - 24,55 руб.

Прибыль в расчете на 1000 голов бройлеров была выше в 1-, 2- и 3- опытных группах чем в контроле соответственно на 17791,24 руб., 20812,05 руб. и 16744,53 руб.

Уровень рентабельности в 1-опытной группе составил 20,41 %, во 2-опытной - 21,90 %, в 3- опытной - 19,91 %, что было выше чем в контроле соответственно на 8,93 %, 10,42 %, 8,43 %.

Таким образом, введение ферментных препаратов Ровабио Эксель, Акстра ХАР и Вилзим в составе комбикормов для цыплят-бройлеров позволяет повышению экономического эффекта.

### 3.4 ПРОИЗВОДСТВЕННАЯ ПРОВЕРКА

Для подтверждения результатов, проведенных научно-хозяйственных опытов, была проведена производственная апробация в условиях НИЦ безопасности и эффективности кормов и добавок ФГБОУ ВО Волгоградского ГАУ (таблица 48).

В данной производственной апробации была дана оценка практического применения кормовых ферментов «сверх» рациона.

Таблица 48 - Схема производственного опыта

| Вариант кормления | Количество голов | Период опыта, дней | Особенности проведения опыта       |
|-------------------|------------------|--------------------|------------------------------------|
| Базовый           | 240              | 37                 | Основной рацион                    |
| Новый             | 240              | 37                 | ОР + Акстра ХАР 100 г/т комбикорма |

Базовый вариант кормления цыплят-бройлеров получал основной рацион (ОР), который не содержал мультиферментных препаратов. Новый вариант кормления цыплят-бройлеров получал дополнительно к основному рациону 100 грамм на тонну комбикорма ферментного препарата Акстра ХАР.

Результаты этой производственной апробации представлены в таблице 49.

Таблица 49 - Результаты производственной апробации

| Показатель                                                                 | Вариант кормления |          |
|----------------------------------------------------------------------------|-------------------|----------|
|                                                                            | Базовый           | Новый    |
| Поголовье на начало опыта, гол                                             | 240,00            | 240,00   |
| Поголовье на конец опыта, гол                                              | 235,00            | 237,00   |
| Процент сохранности поголовья, %                                           | 97,92             | 98,75    |
| Средний вес одной головы бройлера, г                                       | 2497,73           | 2715,93  |
| Вес тушки потрошенной, г                                                   | 1854,70           | 2020,68  |
| Всего получено мяса (выход валовой), кг                                    | 435,85            | 478,90   |
| Израсходовано всего комбикормов за период опыта на начальное поголовье, кг | 860,16            | 860,16   |
| Производственные затраты, руб.                                             | 48196,56          | 48396,56 |
| В том числе: стоимостные затраты на корма, руб.                            | 28075,62          | 28230,45 |
| Дополнительные затраты на ферментные препараты, руб                        |                   | 154,83   |

|                                              |          |          |
|----------------------------------------------|----------|----------|
| Доход от реализации цыплят - бройлеров, руб. | 53610,10 | 58904,84 |
| Общая прибыль, руб                           | 5413,54  | 10508,28 |
| Дополнительная прибыль, руб                  |          | 5094,74  |
| Прибыль в расчете на 1000 голов, руб         | 23036,36 | 44338,75 |
| Уровень рентабельности                       | 11,23    | 21,71    |

Сохранность поголовья в новом варианте кормления составила 98,75 %, а в базовом 97,92 %, т.о. сохранность в новом варианте была лучше на 0,83 %. Средний вес бройлеров в новом варианте кормления был 2715,93 г, что превышало базовый вариант на 218,2 г.

Уровень рентабельности в новом варианте кормления составил 21,71 %, что было выше, чем в базовом на 10,48 %.

Таким образом, дополнительное введение ферментного препарата Акстра ХАР в комбикорма для цыплят-бройлеров позволяет повысить экономическую эффективность отрасли мясного птицеводства, что подтверждено производственной апробацией.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проанализировав полученные результаты исследований в этой работе, а также сравнив данные научно-лабораторного и двух научно-хозяйственных опытов, можно сделать следующие выводы:

1. Разработана и внедрена методика определения восстанавливающих сахаров с применением ДНС-реактива для определения эффективности кормовых ферментов для различного кормового сырья.

2. Определен уровень высвобождения восстанавливающих сахаров под действием разных ферментных препаратов из основного кормового сырья, содержащего некрахмалистые полисахариды: пшеница, ячмень, кукуруза, подсолнечный жмых и их смесь (*in vitro*).

3. Выявлено положительное влияние различных мультиферментных препаратов в рационе цыплят-бройлеров на переваримость питательных веществ: сырого протеина – на 0,66-2,14 %, сырой клетчатки – на 0,29-1,09 %, сырого жира – на 0,29-1,18 % и безазотистых экстрактивных веществ на 1,20-3,08 % в сравнении с птицей контрольной группы. Процент использования азота рациона у цыплят-бройлеров увеличился на 0,93-3,19 %, кальция – 0,65-3,19 % и фосфора – 0,45-1,26 % по сравнению с аналогами из контроля (второй научно-хозяйственный опыт).

4. Изучено влияние мультиферментных препаратов на живую массу цыплят-бройлеров, мясную продуктивность и качество полученной продукции цыплят-бройлеров: данные проведения 1 научно-хозяйственного опыта свидетельствуют о том, что живая масса цыплят-бройлеров увеличилась на 4,76-13,87 % в сравнении с птицей контрольной группы; по результатам исследований 2 научно-хозяйственного опыта произошло повышение живой массы птицы на 6,95-8,68 %, общего прироста живой массы – на 7,12-8,90 % в сравнении с бройлерами контрольной группы. Масса потрошеной тушки при использовании ферментных препаратов у бройлеров увеличилась на 6,68-8,75 %, масса грудных мышц увеличилась на 6,94-9,43 %, масса бедренных мышц

повысилась на 7,06-9,43 %, масса мышц голени увеличилась на 7,91-12,16 %, убойный выход тушки увеличился на 0,06-0,19 %, при этом было отмечено улучшение химического и аминокислотного составов грудных и бедренных мышц.

5. Определено влияние мультиферментных препаратов на морфологические и биохимические показатели крови подопытных цыплят-бройлеров: в первом научно-хозяйственном опыте установлено увеличение содержания эритроцитов на 0,46-4,15 %, общего белка – на 3,94-9,13 %, кальция – на 1,18-19,61 %, фосфора – на 1,19-11,86 %, уменьшение количества лейкоцитов – на 0,69-6,19 %; во 2 научно-хозяйственном опыте было отмечено увеличение содержания эритроцитов на 3,95-5,70 %, гемоглобина – на 3,14-7,14 %, общего белка – на 0,63-1,61 %, кальция – на 1,28-4,15 %, фосфора – на 1,33-4,32 %, а также уменьшение лейкоцитов – на 1,05-1,93 % в сравнении с бройлерами контрольной группы.

6. Изучена микрофлора кишечника подопытных цыплят-бройлеров при включении в рацион мультиферментных препаратов. Содержание *Bifidumbacterium* в опытной группе увеличилось с  $3,10 \times 10^9$  до  $4,45 \times 10^{10}$ , *Lactobacillus* – с  $4,57 \times 10^9$  до  $,93 \times 10^9$ . Следует отметить, что в исследуемых образцах содержимого кишечника отсутствовали патогенные стафилококки, а также эшерихии.

7. Установлено повышение уровня рентабельности за счет использования мультиферментных препаратов в рационах цыплят-бройлеров в первом научно-хозяйственном опыте от 7,56 до 18,6 %, во втором научно-хозяйственном опыте от 8,43 до 10,42 %.

## **ПРЕДЛОЖЕНИЕ ПРОИЗВОДСТВУ**

Для повышения эффективности использования кормов и подбора мультиферментных композиций рекомендуем использовать методику определения восстанавливающих сахаров с применением ДНС-реактива. Введение ферментного препарата Акстра ХАР в количестве 100 г на 1 тонну пшенично-кукурузного комбикорма позволяет повысить мясную продуктивность цыплят-бройлеров на 8,75 % и уровень рентабельности на 10,42 %

## **ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕГО ИССЛЕДОВАНИЯ**

Результаты проведенных исследований подтверждают возможность дальнейшего изучения возможности подбора наиболее эффективных мультиферментных препаратов в кормлении других видов сельскохозяйственных животных и птицы, а также глубже исследовать влияние ферментативного гидролиза на повышение питательной ценности комбикормов.

## СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Активность ферментных препаратов – важнейший критерий их свойств / А. П. Сеницын, О. А. Сеницына, Е. Г. Кондратьева, А. Ю. Плохов // Птицеводство. – 2014. – № 12. – С. 36-39.
2. Андрианова, Е. Н. Белок на основе биомассы бактерий в комбикормах для цыплят-бройлеров и перепелов / Е. Н. Андрианова, И. А. Егоров // Достижения науки и техники АПК. – 2023. – Т. 37. – № 2. – С. 40-44. – DOI 10.53859/02352451\_2023\_37\_2\_40. – EDN FZULTH.
3. Антипитательные факторы кормов / Н. И. Чернышев, И. Г. Панин, Н. И. Шумский, В. В. Гречишников. – Воронеж, 2013. – С. 28- 30.
4. Батоев, Ц. Ж. Физиология пищеварения птиц / Ц. Ж. Батоев. – Улан-Уде, 2001. – С. 127-133.
5. Биологически-активные кормовые добавки: методические рекомендации / ВНИТИП. – Сергиев Посад, 2009. – 100 с.
6. Биологический энциклопедический словарь / Гл. ред. М. С. Гиляров. – М.: Советская энциклопедия, 1986. – С. 687.
7. Бройлерное поголовье Росс 308: Нормативные показатели. – Авиаген Компани, 2014. – С. 4-5.
8. Бройлерное поголовье Росс 308: Нормативные показатели. – Авиаген Компани, 2022. – С. 4-5.
9. Бройлерное поголовье Росс 308: Спецификации рационов корма. – Авиаген Компани, 2022. – С. 4-5.
10. Будаева, В. В. Исследование ферментативного гидролиза отходов переработки злаков / В. В. Будаева, Р. Ю. Митрофанов, В. Н. Золотухин // Ползуновский вестник. – 2008. – № 3. – С. 322-327.
11. Буряков, Н. П. Сравнительная эффективность использования различных пробиотиков в кормлении цыплят-бройлеров / Н. П. Буряков, А. Ю. Козловский, А. Ю. Загарин // Птицеводство. – 2022. – № 2. – С. 4-8. – DOI 10.33845/0033-3239-2022-71-2-4-8. – EDN CCCCEN.

12. Буряков, Н. П. Эффективность добавки аминокислоты L-валина в фазовых рационах для цыплят-бройлеров / Н. П. Буряков, С. А. Щукина, К. А. Горст // Селекционные и технологические аспекты интенсификации производства продуктов животноводства : по материалам Всероссийской научно-практической конференции с международным участием, посвященной 150-летию со дня рождения академика М.Ф. Иванова, г. Москва, 03–04 марта 2022 года.– М.: Российский государственный аграрный университет – МСХА им. К. А. Тимирязева, 2022. – Том II. – С. 363-371. – EDN ZKFNZJ.

13. Влияние амарантового жмыха на показатели продуктивности ремонтных курочек / С. И. Николаев, И. Ю. Даниленко, А. К. Карапетян [и др.] // Известия Нижневолжского агроуниверситетского комплекса: наука и высшее профессиональное образование. – 2022. – № 4(68). – С. 220-225. – DOI 10.32786/2071-9485-2022-04-26. – EDN ICMWYN.

14. Влияние нетрадиционного кормового сырья на морфологические и биохимические показатели крови бройлеров / О. В. Самофалова, А. К. Карапетян, С. И. Николаев, А. С. Чернышков // Птицеводство. – 2023. – № 1. – С. 29-33. – DOI 10.33845/0033-3239-2023-72-1-29-33. – EDN YFLECI.

15. Влияние низкозатратных рационов на продуктивные показатели сельскохозяйственной птицы / С. И. Николаев, В. В. Шкаленко, А. К. Карапетян [и др.] // Зоотехния. – 2022. – № 4. – С. 23-25. – DOI 10.25708/ZT.2022.54.15.006. – EDN XTDDBI.

16. Влияние премиксов и БВМК на гематологические показатели сельскохозяйственной птицы / С. И. Николаев, А. К. Карапетян, О. В. Корнеева [и др.] // Известия Нижневолжского агроуниверситетского комплекса: наука и высшее профессиональное образование. – 2019. – № 2(54). – С. 229-238. – DOI 10.32786/2071-9485-2019-02-28. – EDN XDYLFV.

17. Волонт, Л. А. Курс лекций по ферментологии для студентов ветеринарных факультетов / Л. А. Волонт. – СПб.: СПбГАВМ, 1998. – С. 18-21.

18. Гамко, Л. Н. Влияние структуры гранулированного комбикорма на продуктивность цыплят-бройлеров / Л. Н. Гамко, Е. С. Боровик, Р. В. Шестопапов // Современные тенденции развития аграрной науки : Сборник научных трудов Международной научно-практической конференции, Брянск, 01–02 декабря 2022 года / Брянский государственный аграрный университет. – Брянск: Брянский государственный аграрный университет, 2022. – Том 1. – С. 706-711. – EDN EQCMDV.
19. ГОСТ 31488-2012. Препараты ферментные. Методы определения ферментативной активности ксиланазы. – М.: Стандартинформ, 2012. – С. 2-4.
20. ГОСТ 31662-2012. Препараты ферментные. Методы определения ферментативной активности целлюлазы. – М.: Стандартинформ, 2012. – С. 2-6.
21. ГОСТ 34176-2017. Препараты ферментные. Методы определения ферментативной активности эндо- $\beta$ -глюканазы. – М.: Стандартинформ, 2017. – С. 3-5.
22. ГОСТ 54330-2011. Ферментные препараты для пищевой промышленности. Методы определения амилолитической активности. – М.: Стандартинформ, 2011. – С. 2-4.
23. ГОСТ Р 53047-2008. Препараты ферментные. Методы определения ферментативной активности ксиланазы. – М.: Стандартинформ, 2009. – С. 1-2.
24. ГОСТ Р 54905-2012. Препараты ферментные. Методы определения ферментативной активности  $\beta$ -глюканазы. – М.: Стандартинформ, 2013. – С. 1-2.
25. ГОСТ Р 50852-96. Комбикорма, комбикормовое сырье. Метод определения содержания сырой золы, кальция и фосфора с применением спектроскопии в ближней инфракрасной области. – М.: Госстандарт России, 1996. – С. 4-15.

26. ГОСТ 13496.15-2016. Корма, комбикорма, комбикормовое сырье. Методы определения массовой доли сырого жира. – М.: Стандартинформ, 2016. – С. 4-13.
27. ГОСТ Р 54951-2012 (ИСО 6496:1999) Корма для животных. Определение содержания влаги. – М.: Стандартинформ, 2013. – С. 3-15.
28. ГОСТ 13496.4-2019. Корма, комбикорма, комбикормовое сырье. Методы определения содержания азота и сырого протеина. – М.: Стандартинформ, 2019. – С. 3-12.
29. ГОСТ 32933-2014 (ISO 5984:2002). Корма, комбикорма. Метод определения содержания сырой золы. – М.: Стандартинформ, 2015. – С. 4-10.
30. ГОСТ ISO 6865-2015. Корма для животных. Метод определения содержания сырой клетчатки. – М.: Стандартинформ, 2016. – С. 4-11.
31. Гудвин, Т. Введение в биохимию растений / Т. Гудвин, Э. Мерсер. – М.: «Мир», 1986. – С. 387, 389.
32. Гудин, В. А. Физиология и этология сельскохозяйственных птиц / В. А. Гудин, В. Ф. Лысов, В. И. Максимов. – СПб. – М. – Краснодар, 2010. – С. 162-181.
33. Гусева, И. И. Расторопша пятнистая в комбикормах для кур-несушек / И. И. Гусева, Т. Н. Ленкова // Птицеводство. – 2022. – № 12. – С. 32-35. – DOI 10.33845/0033-3239-2022-71-12-32-35. – EDN UVIXBF.
34. Зинченко, Е. В. Иммунобиотики в ветеринарной практике / Е. В. Зинченко, А. Н. Панин. – Пушкино : ОНТИ ПНУ РАН, 2000. – 164 с.
35. Зоотехнические показатели сельскохозяйственной птицы при использовании биологически активной добавки / В. В. Шкаленко, А. К. Карапетян, Ю. Г. Букаева, А. А. Баксарова // Известия Нижневолжского агроуниверситетского комплекса: наука и высшее профессиональное образование. – 2021. – № 2(62). – С. 283-289. – DOI 10.32786/2071-9485-2021-02-29. – EDN JRNCVD.
36. Использование премикса на основе концентрата «Горлинка» в комбикормах для ремонтного молодняка кур /С.И. Николаев, М.В. Струк, С.В.

Чехранова, Н.А. Дюжева, А.Г. Тюбин // Ветеринария, зоотехния и биотехнология. – 2018. – № 9. – С. 83-91.

37. Использование амарантового жмыха в комбикормах для сельскохозяйственной птицы / А. С. Власов, В. Г. Фризен, С. И. Николаев [и др.] // Кормление сельскохозяйственных животных и кормопроизводство. – 2023. – № 5(214). – С. 3-14. – DOI 10.33920/sel-05-2305-01. – EDN BEIDEO.

38. Использование жмыха и фуза из тыквы в кормлении мясной птицы / С. И. Николаев, А. К. Карапетян, О. В. Самофалова, М. А. Ледяева // Известия Нижневолжского агроуниверситетского комплекса: Наука и высшее профессиональное образование. – 2022. – № 1(65). – С. 240-249. – DOI 10.32786/2071-9485-2022-01-23. – EDN UDYFKD.

39. Использование продуктов переработки семян масличных культур в комбикормах для сельскохозяйственной птицы и объектов аквакультуры / А. С. Власов, В. Г. Фризен, С. И. Николаев [и др.] // Главный зоотехник. – 2023. – № 5(238). – С. 22-32. – DOI 10.33920/sel-03-2305-03. – EDN AFVJSN.

40. Клопов, М. И. Биологически-активные вещества в физиологических и биохимических процессах в организме животного / М. И. Клопов, В. И. Максимов. – СПб: «Лань», 2012. – С. 68-70, 151-160.

41. Кормовые ферменты и проблемы, связанные с их использованием / А. А. Комаров, Л. Я. Телишевская, А. А. Шевченко, Л. В. Васильева, А. А. Панин // Ветеринария и кормление. – 2012. – № 3. – С. 8-10.

42. Лагутин, В. Обзор рынка: кормовые ферменты / В. Лагутин // Ценовик. – 2014. – №9. – С. 32-35.

43. Ленкова, Т. Н. Возможности использования гуматов для бройлеров / Т. Н. Ленкова, Т. А. Егорова // Птицеводство. – 2022. – № 7-8. – С. 21-25. – DOI 10.33845/0033-3239-2022-71-7-8-21-25. – EDN WOENLF.

44. Ленкова, Т. Н. К вопросу нормирования обменной энергии в комбикормах для птицы / Т. Н. Ленкова, Т. А. Егорова // Птицеводство. – 2022. – № 11. – С. 44-48. – DOI 10.33845/0033-3239-2022-71-11-44-48. – EDN MQСММТ.

45. Лукашик, Н. А. Зоотехнический анализ кормов / Н. А. Лукашик, В. А. Тащилин. – М.: Колос, 1964. – 223 с.
46. Максимюк, Н. Н. Физиология кормления животных / Н. Н. Максимюк, В. Г. Скопичев. – Санкт-Петербург – Москва – Краснодар: «Лань», 2004. – С. 224, 230.
47. Марков, А. В. Свойства ферментных комплексов, продуцируемых мутантными штаммами *Trichoderma Reesei*: диссертация на соискание ученой степени кандидата химических наук / Марков, А. В. – М.: МГУ им. М.В. Ломоносова, 2003. – С. 177-178, 182-185, 167-173, 175.
48. Медведев, И. Н. Физиологическая регуляция организма / И. Н. Медведев, С. Ю. Завалишина, Н. В. Кутафина. – СПб: Изд-во «Лань», 2016. – С. 292-294, 298, 306, 317-319.
49. Менякина, А. Г. Эффективность скармливания цыплятам-бройлерам комбикормов с разной рецептурой / А. Г. Менякина, Л. Н. Гамко, А. И. Строченова // Вестник Брянской государственной сельскохозяйственной академии. – 2022. – № 3(91). – С. 24-31. – DOI 10.52691/2500-2651-2022-91-3-24-31. – EDN MPKBOS.
50. Методика оценки результативности функционирования птицеводческих предприятий / Л. М. Ройтер, С.И. Конопляникова, Н.Н. Подгорнова и др. / ВНИИТИП. – Сергиев Посад, 2010. – С. 4-9.
51. Методика проведения научных и производственных исследований по кормлению сельскохозяйственной птицы / ВНИТИП; под общ. ред. В.И. Фисинина. – Сергиев Посад, 2004. – 42 с.
52. Методическое пособие по кормлению сельскохозяйственной птицы / Егоров И.А.; Манукян В.А.; Ленкова Т.Н.; Егорова Т.А. и др. – Сергиев Посад: ВНИТИП, 2021. – 359 с.
53. Методическое руководство по молекулярно-генетическим методам определения микрофлоры кишечника и установления норм ее содержания в желудочно-кишечном тракте цыплят-бройлеров: реком./

Разраб.: Г.Ю. Лаптев, Н.И. Новикова, Л.А. Ильина, И.Н. Никонов и др. / ФГБНУ ВНИТИП. – Сергиев Посад, 2015. – 31 с.

54. Методические рекомендации по оценке экономического состояния птицеводческого предприятия / ВНИИТИП. – Сергиев Посад, 2006. – С. 36-37.

55. Методические указания по оптимизации рецептов комбикормов для сельскохозяйственной птицы / В. И. Фисинин, И. А. Егоров, Т. Н. Ленкова, Т. М. Околелова, Г. В. Игнатова, А. Н. Шевяков, И. Г. Панин и др. / ВНИТИП. – М., 2009. – С. 6-19.

56. Мотовилов, К. Я. Экспертиза кормов и кормовых добавок / К. Я. Мотовилов, А. П. Булатов, В. М. Позняковский. – СПб: Изд-во «Лань», 2020. – С. 315-321.

57. Мясные качества цыплят-бройлеров при использовании в кормлении экстракта из древесины сладкого каштана / Н. П. Буряков, М. А. Бурякова, А. С. Заикина [и др.] // Зоотехния. – 2022. – № 1. – С. 20-24. – DOI 10.25708/ZT.2021.88.84.005. – EDN DOKGEZ.

58. Мясные качества цыплят-бройлеров при разном уровне содержания питательных веществ в комбикормах / В. Е. Подольников, М. В. Подольников, Л. Н. Гамко [и др.] // Инновационное развитие продуктивного и непродуктивного животноводства : сборник научных трудов международной научно-практической конференции, Брянск, 26–27 мая 2022 года. – Брянск: Брянский государственный аграрный университет, 2022. – С. 189-194. – EDN ANRINR.

59. Мясная продуктивность цыплят-бройлеров в зависимости от состава их комбикормов / В. Е. Подольников, А. А. Крупская, М. В. Подольников [и др.] // Актуальные проблемы интенсивного развития животноводства : сборник трудов по материалам национальной научно-практической конференции с международным участием, посвященной памяти доктора биологических наук, профессора, Заслуженного работника Высшей школы РФ, Почетного работника высшего профессионального образования

РФ, Почетного гражданина Брянской области Егора Павловича Ващекина, г. Брянск, 25 января 2022 года. – Брянск: Брянский государственный аграрный университет, 2022. – Том II. – С. 196-201. – EDN RXAXXJ.

60. Околелова, Т. М. Актуальные вопросы кормления сельскохозяйственной птицы / Т. М. Околелова, Т. М. Салимов. – Душанбе: Суфра, 2020. – С. 272.

61. Околелова, Т. М. Минимизация рисков при использовании свежесобранного зерна в комбикормах для птицы / Т. М. Околелова, С. В. Енгашев // Ветеринария и кормление. – 2020. – № 1. – С. 8-9.

62. Околелова, Т. М. Птицеводство: актуальные вопросы и ответы: монография / Т. М. Околелова, С. В. Енгашев, И. А. Егоров. – М.: РИОР, 2020. – С. 118-131.

63. Оценка физиологического состояния птицы и качества продукции / Т. М. Околелова, С. В. Енгашев, Е. С. Енгашева [и др.]. – М. : ООО «Издательский Центр РИОР», 2023. – 184 с. – ISBN 978-5-369-02098-2. – DOI 10.29039/02098-2. – EDN PMKXER.

64. Оценка физиологического состояния птицы по показателям крови / Т. М. Околелова, С. В. Енгашев, И. А. Егоров, Т. А. Егорова // Птицеводство. – 2023. – № 1. – С. 45-50. – DOI 10.33845/0033-3239-2023-72-1-45-50. – EDN ZKQGUF.

65. Плохинский, Н. А. Руководство по биометрии для зоотехников / Н. А. Плохинский, – М. : Колос, 1969. – С. 101-154.

66. Повышение мясной продуктивности цыплят-бройлеров при использовании нетрадиционных кормовых источников / О. В. Самофалова, А. К. Карапетян, С. И. Николаев [и др.] // Известия Нижневолжского агроуниверситетского комплекса: наука и высшее профессиональное образование. – 2022. – № 4(68). – С. 349-355. – DOI 10.32786/2071-9485-2022-04-42. – EDN ANKOSF.

67. Разработка и использование комбикормов, включающих в свой состав нетрадиционные кормовые средства / И. Е. Горин, О. В. Самофалова,

А. К. Карапетян [и др.] // Известия Нижневолжского агроуниверситетского комплекса: наука и высшее профессиональное образование. – 2022. – № 4(68). – С. 334-340. – DOI 10.32786/2071-9485-2022-04-40. – EDN AASTNC.

68. Роль биохимических показателей крови в оценке физиологического состояния птицы / Т. М. Околелова, С. В. Енгашев, И. А. Егоров, Т. А. Егорова // Птицеводство. – 2023. – № 2. – С. 44-51. – DOI 10.33845/0033-3239-2023-72-2-44-51. – EDN BRVDBB.

69. Савкина, Л. Обзор рынка: кормовые ферменты [Электронный ресурс] / Л. Савкина // Ценовик. – 2022. – № 12. – <https://www.tsenovik.ru/archive/2022/TSENOVIK-DEKABR-..>

70. Современное состояние и перспективы развития животноводства России и стран СНГ / В. И. Трухачев, Ю. А. Юлдашбаев, И. Ю. Свиначев [и др.]. – М. : ООО «Мегаполис», 2022. – 337 с. – ISBN 978-5-6049409-2-1. – EDN XCSBHG.

71. Соничев, Б. Е. Жидкие кормовые ферменты – экономия времени и средств / Б. Е. Соничев // Комбикорма. – 2014. – № 6. – С. 74.

72. Соничев, Б. Е. Зерно нового урожая. Работаем ферментами «Хостазим» [Электронный ресурс] / Б. Е. Соничев. – Режим доступа: (allbest.ru) [https://knowledge.allbest.ru/agriculture/2c0a65625a2ad78b5d53b89521206d36\\_0.html?ysclid=16t96auaww77171252](https://knowledge.allbest.ru/agriculture/2c0a65625a2ad78b5d53b89521206d36_0.html?ysclid=16t96auaww77171252)

73. Соничев, Б. Е. Применение жидкого эмульгатора Бредол 683 при гранулировании комбикормов для птицы. Презентация компании Биохем Рус, 2019 [Электронный ресурс] / Б. Е. Соничев. – Режим доступа: [www.biochem.net/ru](http://www.biochem.net/ru)

74. Справочник по выращиванию бройлеров Росс 308. – Авиаген Компани, 2018. – С. 79-107.

75. Сравнение подходов к усвояемости аминокислот на примере белка личинок мух / М. С. Журавлев, В. Г. Вертипрахов, Н. П. Буряков, А. Э.

Японцев // Зоотехния. – 2022. – № 1. – С. 36-40. – DOI 10.25708/ZT.2021.47.32.009. – EDN AKACIK.

76. Сравнительное тестирование коммерческих ферментных препаратов для кормопроизводства [Электронный ресурс] / С. Г. Гришутин, Е. И. Дзедзюля, Е. Г. Кондратьева, М. Н. Зоров, О. А. Сеницына, А. П. Сеницын. – М.: ООО «НПК Фермтек», 2006. – С. 1-2, 3-4. – Режим доступа: <http://biovet-ferment.ru/index.php?id=50>

77. Сравнительный анализ состава и свойств кормовых ферментных препаратов / О. Г. Короткова, Е. А. Рубцова, И. А. Шашков, А. А. Волчок, Е. Г. Кондратьева, О. А. Сеницына, А. М. Рожкова, А. Д. Сатрутдинов, Ю. А. Денисенко, М. В. Семенова, А. П. Сеницын // Катализ в промышленности. – 2018. – №18(4). – С. 72-78.

78. Степаненко, Б. Н. Химия и биохимия углеводов (полисахариды): учебное пособие для вузов / Б. Н. Степаненко. – М.: Высшая школа, 1978. – С. 140, 141, 132, 133.

79. Сысоева, М. Г. Получение, свойства и применение микробной эндо-1,4-β-ксилазазы: диссертация на соискание ученой степени кандидата технических наук / М. Г. Сысоева. – Воронеж, 2004. – С. 32-38, С. 44, 64.

80. Уилсон, К. Принципы и методы биохимии и молекулярной биологии. Лаборатория знаний / К. Уилсон, Дж. Уолкер. – М., 2021. – С. 732-733.

81. Устинов, Б. Б. Свойства ксиланаз *Chrysosporium lucknowense*: диссертация на соискание ученой степени кандидата химических наук / Б. Б. Устинов. – М.: МГУ им. М.В. Ломоносова, 2006. – С. 44-52, 46, 64.

82. Фаритов, Т. А. Корма и кормовые добавки для животных / Т. А. Фаритов. – Санкт-Петербург – Москва – Краснодар: «Лань», 2021. – С. 231-232.

83. Целлюлоза и ее производные / Под ред. Н. Байклза и Л. М. Сегала. – М.: Изд. «Мир», 1974. – С. 486-488.

84. Фисинин, В. И. Уровень динамики развития мясного и яичного птицеводства России. Результаты работы отрасли в 2022 году / В. И. Фисинин // Птицеводство. – 2023. – № 4. – С. 4-8. – EDN MIANAG.

85. Шаабан, М. Влияние использования кормовой фитобиотической добавки «Фарматан» в рационе на качественные и количественные характеристики микробного сообщества желудочно-кишечного тракта цыплят-бройлеров / М. Шаабан, А. С. Заикина, Н. П. Буряков // Достижения и перспективы в сфере производства и переработки сельскохозяйственной продукции : материалы второй национальной научно-практической конференции, посвященной 100-летию со дня рождения В.Я. Горина, пос. Майский, 28 января 2022 года. – пос. Майский: Белгородский государственный аграрный университет имени В.Я. Горина, 2022. – С. 83-85. – EDN QDEJXV.

86. Шаабан, М. Продуктивность и переваримость питательных веществ рациона бройлерами при использовании в кормлении разного уровня фитобиотика / М. Шаабан, Н. П. Буряков // Селекционные и технологические аспекты интенсификации производства продуктов животноводства : по материалам Всероссийской научно-практической конференции с международным участием, посвященной 150-летию со дня рождения академика М.Ф. Иванова, г. Москва, 03–04 марта 2022 года. – М.: Российский государственный аграрный университет – МСХА им. К.А. Тимирязева, 2022. – Том II. – С. 293-296. – EDN PJIJBQ.

87. Шастак, Ю. Некрахмалистые полисахариды и методы определения их активности в кормлении животных / Ю. Шастак // Аналитическая экспертиза и квалиметрия. – 2016. – № 2(2). – С. 69-72.

88. Эффективность воздействия антиоксиданта на зоотехнические и гематологические показатели и состояние печени бройлеров / В. И. Фисинин, Р. З. Абдулхаликов, С. Ч. Савхалова, В. В. Малородов // Птицеводство. – 2021. – № 6. – С. 40-45. – DOI 10.33845/0033-3239-2021-70-6-40-45. – EDN TXTPFZ.

89. Эффективность использования кормовой добавки в рецептуре комбикормов для сельскохозяйственной птицы / В. В. Шкаленко, А. К. Карапетян, А. А. Баксарова, Ю. Г. Букаева // Известия Нижневолжского агроуниверситетского комплекса: наука и высшее профессиональное образование. – 2021. – № 2(62). – С. 298-305. – DOI 10.32786/2071-9485-2021-02-31. – EDN CYOATP.

90. Эффективность использования нетрадиционных кормовых ингредиентов в кормлении цыплят-бройлеров и кур-несушек / О. В. Самофалова, А. К. Карапетян, С. И. Николаев [и др.] // Птицеводство. – 2023. – № 2. – С. 26-29. – DOI 10.33845/0033-3239-2023-72-2-26-29. – EDN ELNCHH.

91. A family 11 xylanase from *Penicillium funiculosum* is strongly inhibited by three wheat xylanase inhibitors / C. S. Furniss, N. J. Belshaw, J. Alcocer, G. Williamson, G.O. Elliott et al. // *Biochimica et Biophysica Acta*. – 2002. – №1598. – P. 24-29.

92. A list of enzymes / Association of Manufacturers and Compilers of Enzyme Products (AMFEP) [Electronic resource]. – October 2009 [www.amfep.org](http://www.amfep.org)

93. A review of chemical and nutritional properties of soybean carbohydrates as related to nonruminants / L. K. Karr-Lilienthal, C.T. Kadzere, C. Greshop, G.C. Fahey // *Livestock Production Science*. – 2005. – №97. – P. 1-12.

94. A third xylanase from *Trichoderma reesei* PC-3-7 / J. Xu, N. Takakuwa, M. Nogawa, H. Okada, Y. Morikawa // *Applied Microbiology and biotechnology* 1998. – № 49. – P. 718-724.

95. Adams, J. B. Review: enzyme inactivation during heat processing of foodstuffs / J.B. Adams // *International Journal of Food Science and Technology*. – 1991. – № 26. – P. 1-19.

96. Adisseo. – <https://animal-nutrition.ru/rovabio-metods.html>

97. Aehle, W. *Enzymes in industry: Production and application* / W. Aehle. – 3<sup>rd</sup> edition. – Wiley New York, 2007. – P. 211.

98. Aman, P. Analysis of total and insoluble mixed-linked (1-3), (1-4)- $\beta$ -D-glucans in barley and oats / P. Aman, H. Graham // *Journal of Agricultural and Food chemistry*. – 1987 – №35. – P. 704-709.
99. Amerah, A. M. Influence of insoluble fiber and whole wheat inclusion on the performance, digestive tract development and ileal microbiota profile of broiler chickens / A. M. Amerah, V. Ravindran, R. G. Lentle // *British Poultry Science*. – 2009. – №50. – P. 366-375.
100. Anderson, D. M. Effect of  $\beta$ -mannanase (Hemicell) on acute phase proteins levels in chicken and turkeys / D. M. Anderson, H. Y. Hsiao // *Poultry Science*. – 2006. – № 85 (Suppl. 1). – P. 130.
101. Andersson, R. Variation in structure and content of water-soluble arabinoxylan from wheat flours / R. Andersson, E. Westerlund, P. Aman. – Elsevier Science Publishers B.V., Amsterdam, 1992. – P. 403-405.
102. Application of soybean meal, soy protein concentrate and isolate differing in a  $\alpha$ -galactosidase content to low- and high-fibre diets in growing turkeys / Z. Zdunczyk, B. Krol et al. // *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*. – 2009. – № 85. – P. 1-10.
103. Aro, N. Transcriptional regulation of plant cell wall degradation by filamentous fungi / N. Aro, T. Pakula, M.E. Pentilla // *FEMS Microbiology Reviews*. – 2005. – №29. – P. 719-720.
104. Aspinall, G. O. Structural chemistry of the hemicelluloses / G. O. Aspinall // *Advances in Carbohydrate Chemistry*. – 1959. – №14. – P. 429-430, 434-441, 435.
105. Bairoch, A. The enzymes database in 2000 / A. Bairoch // *Nucleic Acids Research*. – 2000. – № 28. – P. 304-305, 306.
106. BCN IUBMB. – <https://iubmb.org/biochemical-nomenclature/>
107. Bedford, M. Enzymes in farm animal nutrition / M. Bedford, G. Partridge. – CAB Publishing, Wallingford, UK, 2001. – P. 221, 264.

108. Bedford, M. Enzymes in farm animal nutrition/ M. Bedford, G. Partridge. – 2<sup>nd</sup> edition. – CAB International, UK, USA, 2013. – P. 2-4, 12, 13, 14-15, 20, 21 27, 28, 30, 56-57, 69, 70, 73, 74, 78, 87-88, 143-151.
109. Bhat, M. K. Enzymology and other characteristics of cellulases and xylanases / M. K. Bhat, G. P. Hazlewood. – CABI Publishing, Wallingford, UK, 2001. – P. 11-16.
110. Bourne, Y. Glycoside hydrolases and glycosyltransferases: families and functional modules / Y. Bourne, B. Henrisaat // *Current Opinion in Structural Biology*. – 2001. – № 11. – P. 593-595.
111. Bros, J. The role of vitamins and feed enzymes in combating metabolic challenges and disorders / J. Bros, N. E. Ward // *J. Appl. Poultry Res.* – 2007. – № 16. – P. 150.
112. Buliga, G.S. The sequence statistics and solution conformation of a barley (1-3, 1-4)- $\beta$ -D-glucan / G. S. Buliga, D. A. Brant, G. B. Fincher // *Carbohydrate Research*. – 1986. – №157. – P. 139-140.
113. Carbohydrate-binding modules: fine-tuning polysaccharide recognition / A. B. Boraston, D. N. Bolan, H. J. Gilbert, G. J. Davies // *Biochemical Journal* 2004. – № 382. – P. 595-596.
114. Cellulose-binding domain: classification and properties / P. Tomme, R. A. J. Warren, R. C. J. Miller, D. C. Kilburn, N. R. Gilkes. – ACS Symposium Series, American Chemical Society. – Washington, DC, 1995. – p. 143-144.
115. Choct, M. Enzymes for feed industry: past, present and future / M. Choct // *World Poultry Science Journal*. – 2006. – № 62. – P. 5-8.
116. Choct, M. The next big step for feed enzymes / M. Choct // *Proceeding of the 21<sup>st</sup> European Symposium on Poultry Nutrition*. – Salou, Spain, 2017. – P. 108-112.
117. Clavijo V., Flórez M. J. V. The gastrointestinal microbiome and its association with the control of pathogens in broiler chicken production: A review // *Poultry science*. – 2018. – Vol. 97. – №. 3. – C. 1006-1021.

118. Cloning and expression in *Saccharomyces cerevisiae* of a *Trichoderma reesei*  $\beta$ -mannanase gene containing a cellulose binding domain / H. Stalbrand, A. Saloheimo, J. Vehmaanpera, B. Henrisaat, M.E. Pentilla // *Applied and Environmental Microbiology*. – 1995. – № 62. – P. 1090-1091.

119. Cloning of a gene encoding a thermostable endo- $\beta$ -1,4-glucanase from *Hermosticus aurantiacus* and its expression in yeast / J. Hong, H. Tamaki, K. Yamamoto, H. Kumagai // *Biotechnology letters*. – 2003. – №25. – P. 657-660.

120. Collins, T. Xylanases, xylanase families and extremophilic xylanases / T. Collins, C. Gerday, G. Feller // *FEMS Microbiology Review*. – 2005. – №29. – P. 13-21, 23.

121. Colonna, P. Limiting factors of starch hydrolysis / P. Colonna, V. Leloup, A. Buleon // *European Journal of Clinical Nutrition*. – 1992. – №46. – P. 517-532.

122. Coughlan, M. P. Hemicellulose and Hemicellulases: research monograph / M. P. Coughlan, G. P. Hazlewood. – Portland Press. London and Chapel Hill, 1993. – V. IV. – P. 122-125.

123. Council Directive 93/113/EEC concerning the use and marketing of enzymes, microorganism and their preparations in animal nutrition // *Official Journal of the European Union*. – L334. – 31.12.1993. – P. 17-23.

124. Cowieson, A. J. Correlation between control and ileal amino acids digestability coefficients and the response to exogenous carbohydrase / A. J. Cowieson // *Chicken Nutrition by Rick Kleyn*. – Context Production Ltd. Leicestershire, UK, 2010. – P. 253-254.

125. Cowieson, A. J. Cooperativity between xylanase and glucanase in corn-soybean diet for broilers – evidence for deleterious effects of low energy density on protein digestibility in chicks / A. J. Cowieson, N. R. Bedford, V. Ravindran // *British Poultry Science*. – 2010. – №51(2). – P. 246-257.

126. Cowieson, A. J. Effect of exogenous enzymes in maize-based diets varying in nutrient density for young broilers: growth performance and digestibility

of energy, minerals and amino acids / A. J. Cowieson, R. Ravindran // *British Poultry Science*. – 2008. – №49. – P. 37-44.

127. Cowieson, A. J. The effect of phytase and carbohydrase on ileal amino acids digestibility in monogastric diets: complementary mode of action / A. J. Cowieson, N. R. Bedford // *World Poultry Science Journal*. – 2009. – №65. – P. 609-624.

128. Davies, G. Structures and mechanisms of glycosyl hydrolases / G. Davies, B. Henrissat // *Journal of Biology*. – 1995. – Structure 3, 132. – P. 853-854.

129. Determination of xylanase,  $\beta$ -glucanase and cellulose activity / J. König et al. // *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. – 2002. – № 374. – P. 80-87.

130. Doain functions in *Trichoderma reesei* cellobiohydrolases / T. T. Teeri, T. Reinikainen, T. A. Jones et al. // *Journal of Biotechnology*. – 1992. – №24. – P. 170.

131. Domain in microbial  $\beta$ -1,4-glucanases: sequence conservation, function and enzyme families / N. R. Gilkes, B. B. Henrissat, D. G. Kilburn, R. C. Miller, R.A. Warren // *Microbiology and Molecular Biology Review*. – 1991. – № 55. – P. 313, 315.

132. Effects of combined pressure and temperature on enzymes related to quality of fruits and vegetables: from kinetic information to process engineering aspects / L. Ludikhuyze, A. Van Loey, S. C. Indrawati et al. // *Critical review in Food Science and Nutrition*. – 2003. – № 43. – P. 527-586.

133. Effect of enzyme inclusion in a maize-soybean diet on broiler performance / B. Yu, S. T. Wu, C. C. Liu, et al. *Animal Feed Science and Technology*. – 2007. – № 134. – P. 283-294.

134. Effects of fibre content in pelleted wheat and oats diets on technical pellet quality and nutritional value for broiler chickens / O. Zimonja, H. Hetland, N. Lazarevic, B. Svihus et al. // *Canadian Journal of Animal Science*. – 2008. – №88. – P. 613-622.

135. Effect of wheat cultivar and enzyme addition to broiler chicken diets on nutrient digestibility, performance, and apparent metabolic energy content / A.

Gutierrez del Alamo, M. W. A. Verstegen, L. A. de Hartog et. al. // Poultry Science. – 2008. – №87. – P. 759-767.

136. Enzymatic assay for Xylanase and  $\beta$ -glucanase feed enzymes / T. Cosson et al. // Animal feed science and technology. – 1999. – №77. – P. 345-353.

137. Enzymological aspects of microbial hemicellulases with emphasis on fungal systems: research monograph / M. P. Coughlan, M. G. Tuohy, E. X. Filho, J. Puls, M. Claeysens et. al. – Portland Press London and Chapel Hill, 1993. – V. IV. – P. 53-54.

138. Furniss, C.S.M, Williamson, G., Kroon, P.A. The substrate specificity and susceptibility to wheat inhibitor proteins of *Penicillium funiculosum* xylanases from a commercial enzyme preparations / C. S. M. Furniss, G. Williamson, P. A. Kroon // Journal of the Science of Food and Agriculture. – 2005. – №85. – P. 574-582.

139. Genome sequencing and analysis of the versatile cell factory *Aspergillus niger* CS 513.88 / H. J. Pel, J. H. de Winde, D. B. Archer, P. S. Dyer et al. Nature Biotechnology. – 2007. – №25. – P. 221-231.

140. Gilbert, H. J. Bacterial cellulases and xylanases / H. J. Gilbert, G. P. Hazlewood // Journal of General Microbiology. – 1993. – №139. – P. 188.

141. Grain-associated xylanases: occurrence, variability and implications for cereal processing / E. Dornez, K. Gebrueres, J. A. Delcour, C. M. Courtin // Trends in Food Science & Technology. – 2009. – №20. – P. 495-510.

142. Ghose, T.K. Measurement of cellulose activities / T. K. Ghose // Pure and Applied Chemistry. – 1987. – №59. – P. 258.

143. Gusakov A. V. Assaying sensitivity of fungal xylanases to proteinaceous inhibitors from a rye extract: two GH-family xylanases resistant to XIP-like inhibitors / A. V. Gusakov, B. B. Ustonov // Industrial Biotechnology. – 2009. – № 5. – P. 104-109.

144. Heat stability of endogenous phytase during feed palleting / B. A. Slominsky et al. // Livestock Science. – 2007. – № 109. – P. 244-246.

145. Henrissat, B. A classification of glycosil hydrolases based on amino acids sequence similarities / B. Henrissat // *Biochemical Journal*. – 1991. – № 280. – P. 309-310.
146. Henrissat, B. New families in the classification of glycosil hydrolases based on amino acids sequence similarities / B. Henrissat, A. Bairoch // *Biochemical Journal*. – 1993. – № 293. – P. 783-784.
147. Henry, H. J. A comparison of the non-starch carbohydrates in cereal grains H. J. Henry // *Journal of the Science of Food and Agriculture*. – 1985. – № 36. – P. 1243-1244.
148. Hybrid *Bacillus* 1,3-1,4- $\beta$ -glucanases: engineering thermostable enzymes by construction of hybrid genes / O. Olsen, R. Borris, O. Simon, K. K. Thomsen // *Molecular and General Genetics*. – 1991. – № 225. – P. 178-180.
149. Influence of enzyme supplementation and heat processing of barley on digestive tract and productive performance of broilers / M. Garcia, R. Lazaro, M. A. Latorre et. al. // *Poultry Science*. – 2008. – №87. – P. 940-948.
150. Influence of enzyme supplementation of diets and cooking-flaking of maize on digestive tract and growth performance of broilers from 1 to 21 days of age / M.I. Gracia, R. Lazaro, M. A. Latorre et al. // *Animal Feed Science and Technology*. – 2009. – №150. – P. 303-315.
151. Jeffries, T. W. Comparative study of Xylanase kinetics using dinitrosalicylic, arsnomolibdate and ion chromatographic assays / T. W. Jeffries, V. W. Yang, M. W. Davis // *Applied Biochemistry and Biotechnology*. – 1998. – № 3. – P. 70-72, 257-265.
152. Jeroch, H. Barley in poultry feeding: a review / H. Jeroch, S. Danicke // *World's poultry science journal*. – 1995. – № 51. – P. 271-175.
153. Kulkarni, N. Molecular and biotechnological aspects of xylanases / N. Kulkarni, A. Shendye, M. Rao // *FEMS Microbiology Reviews*. – 1999. – №23. – P. 411-456.
154. Megazyme. Overcoming the problem of Xylanase inhibitors in feed analysis, 1999. [www.megazyme.com](http://www.megazyme.com).

155. Meisner, K. The thermostabilizing domain of the modular xylanase XynA of *Thermotoga aritiae* represents a novel type of binding domain with affinity for soluble xylan and mixed-linkage  $\beta$ -1,3(4)-glucan / K. Meisner, D. Wassenberg, W. Liebl // *Molecular Microbiology*. – 2000. – №36. – P. 899-891.

156. Meng, X. Nutrition values of corn, soybean meal, canola meal, and peas for broiler chicken as affected by a multicarbohydrase preparation of cell wall degrading enzymes / X. Meng, B. A. Smolinski // *Poultry Science*. – 2005. – № 84. – P. 1242-1251.

157. Microbial xylanases and their industrial applications: a review / Q. K. Beg, M. Kapoor, L. Mahajan, G. S. Hoondal // *Applied Microbiology and Biotechnology*. – 2001. – №56. – P. 326-338.

158. Miller, G. L. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar / G. L. Miller // *Analytical Chemistry*. – 1959. – № 31. – P. 426-428.

159. Novozymes: Group financial statement for 2008. – Novozymes, Bagsvaerd, Denmark, 2009. – P. 3.

160. Occurrence of proteinaceous endoxylanase inhibitors in cereals / H. Goesart, G. Elliot, P. A. Kroon, K. Gebruers, J. Robben et al. *Biochimica et Biophysica Acta*. – 2004. – №1696. – P. 193-202.

161. Passage rate through the anterior digestive tract of broiler chickens fed on diets with ground or whole wheat / B. Svihus, H. Hetland, M. Choct, F. Sundby // *British Poultry Science*. – 2002. – № 43. – P. 662-668.

162. Physical and nutritional effects of pelleting of broiler chicken diets made from wheat ground to different coarsenesses by the use of roller mill and hammer mill / B. Svihus, K. H. Klovstad, V. Perez et al. // *Animal Feed Science and Technology*. – 2004. – № 117. – P. 281-293.

163. Planas A. Bacterial 1,3-1,4- $\beta$ -glucanase: structure, function and protein engineering / A. Planas // *Biochimica et Biophysica Acta*. – 2000. – №1543. – P. 362-364.

164. Process consideration in the enzymatic hydrolysis of biomass / M. R. Ladisch et al. // *Enzyme and Microbial Technology*. – 1983. – №5. – P. 82-93.

165. Properties of selected hemicellulases of a multi-enzymatic system from *Penicillium funiculosum* / S. Karboune, L. L'Hocine, J. Anthony, P. Geraert, S. Kermasha // *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*. – 2009. – № 73. – P. 1286-1288.
166. Proteomic analysis of Rovabio™ Excel, a secreted protein cocktail from the filamentous fungus *Penicillium funiculosum* grown under industrial process fermentation / O. Guais, G. Borderies et al. // *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*. – 2008. – №35. – P. 1659-1668.
167. Phytate degradation in a mixture of ground wheat and ground defatted soybean during feed processing: effect of temperature, moisture level, and retention time in small- and medium-scale incubation system with enzymes: xylanase and phytase / V. Denstadli, R. Vestre, B. Svihus, A. Skrede, T. Storebakken // *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. – 2006. – №54. – P. 5887-5893.
168. Purification, characterization and properties of two xylanases from *Humicola insolens* / E. Dusterhoft, V. Linssen, A. Voragen, G. Beldman // *Enzyme and Microbial Technology*. – 1997. – №20. – P. 437-445.
169. Retaining and inverting types of hydrolases mode of action / D. Koshland et al. // *Biol. Rev.* – 1953. – № 28. – P. 416.
170. Robson, L. M. Cellulases of bacterial origin / L. M. Robson, G. H. Chambliss // *Enzymes and Microbial Technology*. – 1989. – №11. – P. 626-631.
171. Scott, T. A. Effect of pelleting and enzyme supplementation on variation in the feed value of wheat-based diets fed to broiler chicks / T. A. Scott, F. G. Silversides, R. T. Zijlstra // *Canadian Journal of Animal Science*. – 2003. – №83. – P. 257-263.
172. Selvendran, R. R. Dietary fiber: chemistry, analysis and properties / R. R. Selvendran, B. L. H. Stevens, M. S. Du Pont // *Advances in Food Research*; Chichester, C.O. (ed). – Academic Press, London, 1987. – Vol. 31. – P. 117-209.
173. Simple and rapid determination of enzyme activity using colorimetric method / A. J. Engelen et al. // *Journal of AOAC International*. – 1994. – № 77. – P. 760-764.

174. Sjostrom, E. Wood Chemistry: Fundamental and Applications / E. Sjostrom. – 2<sup>nd</sup> edn. – Academic Press, New York, 1993. – P. 63-65.
175. Sorensen, J. Mapping of residues involved in the interaction between the *Bacillus subtilis* xylanase A and proteinaceous wheat xylanase inhibitors / J. Sorensen, O. Sibbesen // Protein Engineering Design and Selection. – 2006. – №19. – P. 205-210.
176. Stephen, A. M. Food polysaccharides and their applications / A. M. Stephen. – Marcel Dekker, Inc., 1995. – P. 654.
177. Stereochemistry of chitin hydrolysis by a plant chitinase/lysozyme and x-ray structure of a complex with allosamidin. Evidence for substrate assisted catalysis / A. Terwisscha van Scheltinga, S. Armand, K. H. Kalk, A. Isogai, B. Henrissat, B. W. Dijkstra // Biochemistry. – 1995. – № 34. – P. 15621-15623.
178. Stocklen, M. B. Plant genetic engineering for biofuel production: towards affordable cellulosic ethanol / M. B. Stocklen // Nature Reviews Genetics. – 2008. – №. – P. 433-434.
179. Structural basis for inhibition of *Aspergillus niger* Xylanase by *Triticum aestivum* Xylanase inhibitor-I / S. Sansen, et al. // Journal of Biological chemistry. – 2004. – № 279. – P. 36022-36028.
180. Subramaniyan, S. Biotechnology of microbial xylanases: Enzymology, molecular biology and application / S. Subramaniyan, P. Prema // Critical reviews in Biotechnology. – 2002. – № 22. – P. 39-67.
181. Summers, J. D. Metabolic disorders in poultry / J. D. Summers, C. A. Adams, S. Leeson // Context Products. – 2013. – № 8-9. – P. 180-181.
182. Sunna, A., Antranikian, G. Xylanolytic enzymes from fungi and bacteria. 1997. Critical Reviews in Biotechnology 17, p. 39-67.
183. Targeted mmolecular engineering of a family qq endoxylanase to decrease its sensitivity towards *Triticum eastivum* xylanase inhibitor types / T. M. Bourgois, D. V. Nguyen, S. Sansen, S. Rombouts, T. Belien, K. Fierens et al. // Journal of Biotechnology. – 2007. – №130. – P. 95-105.

184. Tenkanen, M. Two major xylanases of *Trichoderma reesei* / M. Tenkanen, J. Puls, K. Poutanen // *Enzyme and Microbial Technology*. – 1992. – № 14. – P. 566-573.
185. Thacker, P. A. Effect of gastric pH on the activity of exogenous pentosanase supplementation of the diet on the performance of growing-finishing pigs / P. A. Thacker, T. C. Baas // *Animal Feed Science and Technology*. – 1996. – № 63. – P. 187-200.
186. The Carbohydrate-Active EnZyme database (CAZy) an expert resource for glycogenomics / B. L. Cantarel, P. M. Coutinho, B. Henrissat et al. // *Nucleic Acids Research*. – 2009. – №37. – P. 233-235.
187. The dual nature of the wheat xylanase protein inhibitor XIP-I / F. Payan, P. Leone, C. Furniss et al. // *Journal of biological Chemistry*. – 2004. – № 279. – P. 36029-36037.
188. The effect of fat-coated organic salts and a feed enzyme on growing performance, nutrient utilization, microflora activity, and morphology of the small intestine in broiler chickens / S. Smulikowska, J. Czerwiski, A. Mieczkowska et al. // *Journal of Animal and Feed Science*. – 2009. – № 18. – P. 478-489.
189. The pKa of the general acid/base carboxyl group of a glycosidase cycles during catalysis a <sup>13</sup>C-NR study of bacillus xylanase / L. P. McIntosh, G. Hand, P. E. Johnson, M. D. Joshi, M. Korner, L. A. Plesniak et al. // *Biochemistry*. – 1996. – № 35. – P. 9958-9959.
190. The productive performance in broiler chicks fed diets with enzymatic hydrolysates of keratin- and collagen-containing materials / V. Lukashenko, V. Fisinin, I. Saleeva [et al.] // *Proceedings of the 26th World's Poultry Congress. Book of Abstracts 2021 V. 1* : Dr. Michèle Tixier-Boichard, Dr. Michel Duclos, Editors, Paris, France, 07–11 августа 2022 года. – Paris: French Branch of the World's Poultry Science Association, 2022. – P. 195. – EDN ALJTOM.
191. *Triticum aestivum* xylanase inhibitor (TAXI), a new class of enzyme inhibitor affecting breadmaking / W. Debyser et al. // *Performance Journal of Cereal Science*. – 1999. – №30. – P. 39-43.

192. Vahien, W. Biochemical characteristics of non-starch polysaccharide hydrolyzing enzyme preparations designed as feed additives for poultry and piglet nutrition / W. Vahien, O. Simon // *Archives of Poultry Nutrition*. – 1999. – № 52. – P. 2-5, 8-14.

193. Vries, de R. P. Aspergillus enzymes involved in degradation of plant cell wall polysaccharides / R. P. de Vries, J. Visser // *Microbiology and Molecular Biology Reviews*. – 2001. – № 65. – P. 497-522.

194. Weijers, S. R. Enzyme stability in downstream processing. Part I: enzyme inactivation, stability and stabilization / S. R. Weijers, K. van't Riet // *Biotechnology Advances*. – 1992. – №10. – P. 237-249.

195. Wilkie, K. C. B. The hemicellulose of grasses and cereals / K. C. B. Wilkie // *Advances in Carbohydrate Chemistry and Biochemistry*. – 1979. – №36. – P. 215-217, 225-227, 231, 233.

196. Wood, P. J. Structural studies of (1-3), (1-4)- $\beta$ -D-glucans by  $^{13}\text{C}$ -nuclear magnetic resonance spectroscopy and by rapid analysis of cellulose-like region regions using high-performance anion-exchange chromatography of oligosaccharides released by lichenase / P. J. Wood, J. Weisz, B. A. Blackwell // *Cereal Chemistry*. – 1994. – №71. – P. 302.

197. Woodward, J. Xylanases: functions, properties and applications / J. Woodward // *Topics in Enzymes and Fermentation Biotechnology*. – 1984. – № 8. – P. 9-14.

198. Wu, W. Thermostable enzyme compositions / W. Wu, D. Petterson, C. Fuglsan. – PCT Patent Application Publication WO 03/062409, 2002. – p. 23-25.

199. Xylanases from fungi: properties and industrial applications / M. L. T. M. Polizeli, A. C. S. Rizzatti, R. Monti et al. // *Applied Microbiology and Biotechnology*. – 2005. – № 67. – P. 577-580.

## СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

ВАА – амилаза *Bacillus amyloliquefaciens*

СВМ – целлюлозосвязывающий модуль

РРА - панкреатическая амилаза свиней

БПИК (ТАХI) – белки пшеницы, ингибирующие ксиланазы

ГЭЦ – гидроксипропилцеллюлоза

КМЦ – карбоксиметилцеллюлоза

ПИК (ХIР) – протеины, ингибирующие ксиланазы

ТПИК (ТL-XI) – тауматин-подобные ингибиторы ксиланаз

НКП – некрахмалистые полисахариды

ССП – среднесуточный привес

УСМ – углеводсвязывающий модуль

ЦСД – целлюлозосвязывающий домен

КГ – контрольная группа

ОП – опытная группа