УДК 577.151:543.6:54-128.4
СЕЛЕЗНЬОВА О.О., канд.біол.наук
ПОНОМАРЕНКО Н.В., ЦЕХМІСТРЕНКО О.С., кандидати. с.-г. наук
Білоцерківський національний аграрний університет

ВПЛИВ ЙОНІВ МЕТАЛІВ ТА ЙОННОЇ СИЛИ РОЗЧИНУ НА МІЦНІСТЬ ЗВ'ЯЗКУ ІММОБІЛІЗОВАНОГО ФЕРМЕНТУ З НОСІЄМ

В науковій літературі наводиться багато даних щодо стабілізуючого впливу катіонів металів на іммобілізацію ферментів. Зокрема розглядається як безпосередня участь йонів металів в процесі іммобілізації, так й модифікація солями металів носіїв, що застосовуються для адсорбції ферментних препаратів. Специфічна дія солей при адсорбції ферментів визначається з одного боку, створенням йонної сили, що послаблює взаємодію ферменту з адсорбентом, а з другого - створенням специфічного впливу на конформацію білкової молекули і на процеси взаємодії білкових частинок.

Ключові слова: адсорбція, цеоліт, протосубтилін Г3Х, модифікація, інкубаційна суміш, каталітична активність.

Екзогенні ензимні добавки в комбікорми птиці виявляють нестабільність дії при застосуванні. Одним із ефективних і простих способів модифікації ферментних препаратів є їх адсорбція (іммобілізація) на природних носіях. Головним недоліком фізичного методу іммобілізації є те, що фермент може зв'язуватися з носієм недостатньо міцно. Десорбцію ферменту можуть викликати незначні зміни зовнішніх умов: pH, йонна сила розчину, температура і природа розчинника. Тому визначення оптимальних умов для іммобілізації є необхідною умовою для створення стабілізованих форм біопрепаратів.

Метою роботи було дослідження впливу йонів металів, що використовуються в якості добавок у годівлі птиці, на процеси іммобілізації ферментів протеолітичного спектру дії. Дослідження проводили в еколого-біотехнологічній лабораторії БНАУ. Вивчали вплив йонів металів, що додавались безпосередньо в інкубаційне середовище ферментного препарату при проведенні іммобілізації на носії - цеоліті, а також використання носія з попередньою обробкою солями металів без їх додавання в інкубаційне середовище. Каталітична активність вихідного ферментного препарату, одержаного іммобілізацією протосубтиліну Г3Х в фосфатному буферному розчині із pH 7,0-7,4, складала 3,6 од/г (85,7% від активності нативного ферменту).

У результаті експерименту встановлено, що при додаванні йонів Ca^{2+}, Zn^{2+}, Mn^{2+} концентрацією 0,2М в інкубаційну суміш ферментного препарату протосубтилін Г3Х відбувалася десорбція молекул ензиму.

Із зменшенням йонної сили розчинів дані катіони неоднозначно впливали на процеси іммобілізації. Зокрема Ca^{2+} (0,02М) підвищував адсорбцію протосубтиліну у порівнянні з вихідною формою іммобілізованого препарату, а присутність йонів Zn^{2+} і Mn^{2+} (0,02М) знижувало каталітичну активність ферменту. Різке зменшення ферментативної активності спостерігалось при додаванні в інкубаційну суміш Al_2O_3, що можна пояснити адсорбційною здатністю даної сполуки.

Використання для іммобілізації попередньо модифікованого носія солями металів виявилося більш ефективним способом. При адсорбції на модифікованому розчином $CaCl_2$ (0,2М) цеоліті спостерігали збільшення

каталітичної активності протосубтиліну до 90% , що можна пояснити утворенням координаційних зв’язків між молекулами ферменту і носієм за рахунок йону Ca^{2+}.

Цеоліт, оброблений розчином $ZnSO_4$, не вплинув на каталітичну активність ферменту, а оброблений розчином $MnSO_4$ сприяв зниженню активності іммобілізованого препарату на 20%.

При адсорбції на цеоліті, модифікованому Al_2O_3, результати визначення активності ферменту коливались у досить широких межах – 70-95%. Це пояснюється особливістю формування шару гідроксиду алюмінію на поверхні носія, що й призвело до нерівномірної адсорбції ферменту на носії (таблиця 1).

Таблиця 1

Вплив неорганічних йонів та йонної сили розчину на іммобілізацію протосубтиліну Г3Х*

Йон металу	Концентрація солі, моль/л	Йонна сила розчину	Активність іммобілізованого ферменту при додаванні солей металів в інкубаційну суміш, %	Активність іммобілізованого ферменту на модифікованому цеоліті, %
Ca^{2+} ($CaCl_2$)	0,2	0,6	23	90
	0,02	0,06	90	85
Zn^{2+} ($ZnSO_4$)	0,2	0,8	50	85
	0,02	0,08	78	85
Mn^{2+} ($MnSO_4$)	0,2	0,8	50	65
	0,02	0,08	66	65
Al^{3+} (Al_2O_3)	0,2	1,2	35	70-80
	0,02	0,12	65	70-95

** Вихідна каталітична активність іммобілізованого ферменту 85,7% від його нативної форми.*

Таким чином дослідженням встановлено, що йони Zn^{2+} і Mn^{2+} негативно впливають на міцність зв’язку ферменту з носієм. При збільшенні йонної сили розчинів відбувалася значна десорбція білкових молекул з поверхні носія. Але присутність комплексоутворювача – йону Ca^{2+} в інкубаційному середовищі підвищувало адсорбційну здатність ферменту. Очевидно, що основну роль при зв'язуванні ферменту з носієм в присутності іонів металів відіграють координаційні зв'язки.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Brena B., González-Pombo P., Batista-Viera F.Immobilization of Enzymes: A Literature Survey [Book Section]. Methods Mol.Biol.: Immobilization of Enzymes and Cells / ed. Guisan J. New York: Humana Press, 2013.Vol. 1051. P. 15-31.
2. Dwevedi Alka. Enzyme Immobilization : Advances in Industry, Agriculture, Medicine, and the Environment. Cham: Springer International Publishing. 2016. 141 p. URL: www.springer.com/gp/book/9783319414164.
3. Клюева М.В. Основные аспекты иммобилизации ферментов на примере липаз. Молодой ученый. 2014. №8. С. 320-325. URL:https://moluch.ru/archive/67/11432/(дата обращения: 17.05.2018).
4. Robinson P. K. Enzymes: principles and biotechnological applications. Essays in Biochemistry. 2015, v. 59, P. 1-41. DOI: https: //doi.org/10.1042/bse0590001.
5. Тодосійчук Т.С. Встановлення технологічних режимів отримання іммобілізованого гідролітичного ферментного препарату. Вісник НТУ «ХПІ». Харьків. 2015. № 52 (1161). С. 122–126.

6. Ходыкина М. О., Першина Е. Д., Каздобин К. А, Трунова Е. К. Стабилизация нативного ферментного препарата на неорганических носителях каолине и аэросиле. Укр. хим. журнал. 2016. Т. 82, № 9, С. 57–63.

УДК 636.52/.58.087.8
БІЛЬКЕВИЧ В.В., ЧЕРНЮК С.В. кандидат с.-г. наук
Білоцерківський національний аграрний університет

ЗГОДОВУВАННЯ НЕТРАДИЦІЙНИХ КОРМІВ СІЛЬСЬКОГОСПОДАРСЬКІЙ ПТИЦІ

На сьогоднішній день в годівлі курчат-бройлерів використовують нетрадиційні корми, препарати, кормові добавки. Під час застосування нетрадиційних кормів необхідно дотримуватися рекомендованих норм, оскільки, нестача або надлишок буде призводити до зниження продуктивності, хвороб та погіршення якості продукції птахівництва. Рецептуру кормосумішей, формують з різних складових, але все ж таки основну частину займають звичайні зернові культури. У країнах Європейського союзу частка зернових складає близько 30-45%, в Україні ж цей показник складає близько 60%. Оскільки, на ринку України постійно відбувається зростання цін на зернові, виробники намагаються здешевити вартість корму, замінивши їх на більш дешевші. [2].

Ключові слова: курчата-бройлери, нетрадиційні корми, суміш.

Збалансованість годівлі птиці є найбільшою передумовою для досягнення високих результатів. Кожен керівник прагне рентабельного виробництва і відповідно зниження собівартості продукції птахівництва. Звідси випливає актуальне питання щодо використання нетрадиційних кормів та добавок в годівлі сільськогосподарської птиці. Нетрадиційні корми умовно поділяються: білкові, високоенергетичні, вітамінні, мінеральні, багаті на вуглеводи. [1].

До нетрадиційних кормів можна віднести – люпин, ріпак, горох, тритикале, кормові боби, залишки зерна кукурудзи, кормові дріжджі, барда, пивна дробина, амарант, сухий жом, сапропель та багато інших.

Побічними продуктами виробництва олійних культур є шрот та макуха, які являються високобілковим концентрованим кормом для всіх видів сільськогосподарської птиці і входять переважно до складу комбікорму. За поживністю макуху та шрот прирівнюють до зернових кормів, але у них завищений вміст протеїну. Макуха містить до 30% протеїну, жиру від 5-12%, а шрот відповідно 37% протеїну та 3% жиру. [1].

Замінником зернових культур може бути тритикале - це гібрид пшениці та жита з високим вмістом протеїну 15-18% та енергії 1193 кДж/100г, а виходячи з цього ним можна замінювати пшеницю на 50-100%. [2].

Серед нових культур застосовують амарант який вирізняється універсальністю використання та високою врожайністю. Амарант має високий вміст протеїну у зеленій масі – 19%, жиру – 1,8%, саме ж зерно амаранту містить до 7 % ліпідів, багате на незамінні амінокислоти.

На сьогоднішній день набувають широкого застосування каротиноїдні препарати рослинного походження, а саме спіруліни (600–1600 мг/кг), кукурудзи (8–22 мг/кг), трав’яного борошна (100–210 мг/кг), глютену кукурудзи (100–200