**REPORTS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES
OF THE REPUBLIC OF KAZAKHSTAN**
ISSN 2224-5227
Volume 5, Number 303 (2015), 106 – 113

UDC 579.22+577.15

The leading role in macerating enzymes disposal of agricultural waste

R.K.Blieva, A.K.Sadanov, M.M.Shormanova
raubil@mail.ru
RGE "Institute of Microbiology and virology" SC MES RK, Almaty

Key words: destruction, waste, cellulase, pectinase, maceration, cellulose, polysaccharides, monocultures, micromycetes, association.

Abstract. First of all, it is necessary to macerate the vegetable fabric, for an effective utilization of agricultural waste and their transformation into useful food for farm animals. Namely, macerated enzymes carry out hydrolysis of various pectinaceous substances, which exist in intercellular space, lead to the essential changes of vegetable fabrigalacturonans, ramnogalacturonans, arabinans, galactans, arabinogalactans belong to various pectinaceous substances of intercellular space, which are split by various enzyme. Exactly, the pectin degrading enzymes are the first and leading destructors of vegetable fabric, which differ on the mechanism of action, and substrate with specificity. They include hydrolases, pectinmetyl esterase and polygalacturonase, which differ in substrate specificity, as well as enzymes with eliminative mechanism. Then cellulolytic and other enzymes destroy the vegetable fabric, exempted from the pectinaceous substances cementing it even deeper. Cellulases destroy the cellular wall of plants, strengthening maceration of vegetable fabric and releasing easily digestible carbohydrates. Enzymatic hydrolysis of cellulose is based on the synergistic action of endoglucanase ecsogluconase and β-glucosidase. Endoglucanase hydrolyze the available intramolecularβ-1,4 glucosidase communications of cellulose chains randomly, forming the new ends of chains, ekzogluconases are catalyzed by splitting the cellulose of chains since the end, forming glucose; β-glucosidase hydrolyze a cellobyose to glucose. Application of the macerating and cellulolytic enzymes in a forage production, restrains due to the lack of highly active producers of these enzymes. Therefore, it is necessary, to look for the active producers of enzymes for bioconversion of vegetable waste and their transformation into useful food, in prey turn for farm animals. It can be not one culture, but the whole consortium of microorganisms. Therefore, for deeper destruction of the difficult vegetable polysaccharides containing in a stern – in intercellular space and cellular walls of vegetable fabric, it is expedient to create highly active association of microorganisms which would possess an active complex of macerating, cellulolytic and other enzymes.

УДК 579.22+577.15

Ведущая роль мацерирующих ферментов в утилизации сельскохозяйственных отходов

Р.К. Блиева, А.К. Саданов, М.М. Шорманова

raubil@mail.ru
РГП «Институт микробиологии и вирусологии» КН МОН РК, Алматы

Ключевые слова: деструкция, отходы, целлюлаза, пектиназа, мацерация, клетчатка, полисахариды, монокультуры, микромицеты, ассоциация.

Аннотация. Для эффективной утилизации сельскохозяйственных отходов и превращение их в полезные продукты питания для сельскохозяйственных животных необходимо прежде всего мацерировать растительную ткань. Именно мацерирующие ферменты осуществляющие гидролиз различных пектиновых веществ находящихся в межклеточном пространстве, приводят к существенным изменениям растительной ткани. К разнообразным пектиновым веществам межклеточного пространстве относятся галактуронаны, рамногалактуронаны, арабинаны, галактаны, арабиногалактаны, которые расщепляются разнообразными

ферментами. Именно пектинрасщепляющие ферменты являются первыми и ведущими деструкторами растительной ткани, которые различаются по механизму действия и субстратный специфичностью. К ним относятся гидролазы-пектинметил-эстераза и полигалактуроназы различающиеся по субстратной специфичности, а так же ферменты с элиминативным механизмом действия. Затем уже целлюлозоразрушающие и другие ферменты еще глубже разрушают растительную ткань, освобожденную от цементирующих ее пектиновых веществ. Целлюлазыразрушают именно клеточную стенку растений усиливая мацерацию растительной ткани и высвобождая легко усвояемые углеводы. Энзиматический гидролиз целлюлозы основан на синергизме действия эндоглюконаз, экзоглюконаз и β-глюкозидаз. Эндоглюканазыгидролизуют доступные интрамолекулярные β-1,4 глюкозидазные связи целлюлазных цепей неупорядоченно, образуя новые концы цепей, экзоглюконазы катализирует расщепление целлюлоных цепей с конца, образуя глюкозу; β-глюкозидазыгидролизуютцеллобиозу до глюкозы. Применение мацерирующих и целлюлозоразрушающих ферментов в кормопроизводстве сдерживается из-за отсутствия высокоактивных продуцентов этих ферментов. Поэтому для биоконверсии растительных отходов и превращения их в полезные продукты питания для сельскохозяйственных животных необходимо в превую очередь искать активные продуценты этих ферментов. Это может быть не одна культура,а целый консорциум микроорганизмов. Поэтому для более глубокой деструкции сложных растительных полисахаридов, содержащихся в корме – в межклеточном пространстве и клеточных стенок растительной ткани, целесообразно сформировать высокоактивную ассоциацию микроорганизмов, которая обладала бы активным комплексом мацерирующих, целлюлозоразрушающих и других ферментов.

Выращивание любой сельскохозяйственной культуры сопровождается получением большого количества отходов. Микробиологическая их конверсия в различные полезные продукты питания для сельскохозяйственных животных представляет собой одну из важнейших проблем. Поэтому в настоящее время переработка отходов сельскохозяйственных культур и превращение их в полезные продукты питания является актуальным.

Многие из отходов сельскохозяйственных культур такие как солома, рисовая шелуха, отходы зерновых и овощных культур[1] и другие содержат трудноусвояемую клетчатку, лигнин, пектиновые вещества и другие полисахариды, которые можно расщепить и превратить в легкодоступные, легкоусвояемые углеводы – столь необходимые в кормах. Основная проблема связанная с утилизацией сельскохозяйственных отходов, состоит в том, что многие растительные полисахариды, особенно целлюлоза, чрезвычайно устойчива к различным воздействиям. Так время полурасхода целлюлозы в естественных условиях составляет 5-8 миллионов лет для разрушения β-гликозидных связей при 25^0C[2], а отдельные кристаллиты хлопкового волокна (хлопковая целлюлоза) выдерживают длительное кипячение в крепких растворах соляной кислоты [3].

Наиболее безопасная и быстрая деструкция растительного сырья и превращение их в полезные продукты питания для животных происходит под действием полиэнзимных процессов осуществляемые целлюлозным, гемицеллюлозным ипектиназным комплексами ферментов синтезируемые микроорганизмами.

Использование микробных ферментов в кормлении сельскохозяйственных животных - относительно новое направление. Для Казахстана это тема становиться все актуальнее т.к. продолжается рост концентрированных кормов в рационах животных и птиц. Добавление в корм такого сырья, как непродовольственная пшеница, овес, ячмень и рожь, т. е. зерновых культур, обеспечивают кроме своих питательных свойств также и антипитательные свойства. Некрахмалистыеполисахариды попадая в пищеварительный тракт животных при усвоении набухают и образуют вязкий раствор, обволакивая гранулы крахмала, белки, жиры и другие важные питательные вещества, ограничивая их всасывание. В результате в кишечном тракте содержится повышенное количество невсасывающихся питательных веществ, которые способствуют развитию патогенной микрофлоры в нижних отделах кишечника, что создает проблемы для здоровья и продуктивности животных.

Низкая питательность ряда грубых и зерновых кормов обусловлена тем, что они содержат в значительных количествах клетчатку, пектиновые вещества [4,5] и другие трудногидролизуемыенекрахмалистые полисахариды, содержащиеся как в клеточных стенках эндосперма зерна, так и в грубом корме, которые при лущении не устраняются.

Основными предпосылками для добавления ферментов в корма является то, что в пищеварительном тракте многих животных и птиц отсутствуют ферменты, расщепляющие сложные некрахмалистые полисахариды растительных тканей и клеточных стенок. Для гидролиза трудноразрушаемых грубых кормов, некрахмалистых полисахаридов растительной ткани и снятия антипитательных свойств корма необходимо в корм добавлять экзогенные ферменты, которые можно получать микробиологическим синтезом.

В мировой практике кормопроизводства наиболее эффективно применяются ксиланаза, бета-глюконаза, целлюлаза, фитаза и протеаза. В последние годы особое значение придают ферментуфитазе, катализирующему гидролиз фитинов и увеличивающие усвоение органического фосфора кормов [6-21]. Повышение качества кормов за счет введение в рацион сельскохозяйственных животных совместно комплексных мацерирующих и целлюлозоразрушающих ферментных препаратов является новым предложением и экономически выгодным.

В растительной ткани высших растений отдельные клетки соединены между собой благодаря цементирующим пектиновым веществом (рис.1),находящихся в основном в составе срединных пластинок и клеточных стенок и представляют собой сложные полисахариды. Срединная пластинка формируется в процессе клеточного деления и является результатом синтетической и выделительной активности протопласта клетки.

Были опубликованы несколько обзорных работ по пектиновым веществам [22], в которых обсуждаются вопросы химического строения и номенклатура сложных пектиновых веществ, их свойства,методывыделения и распространения в растениях.

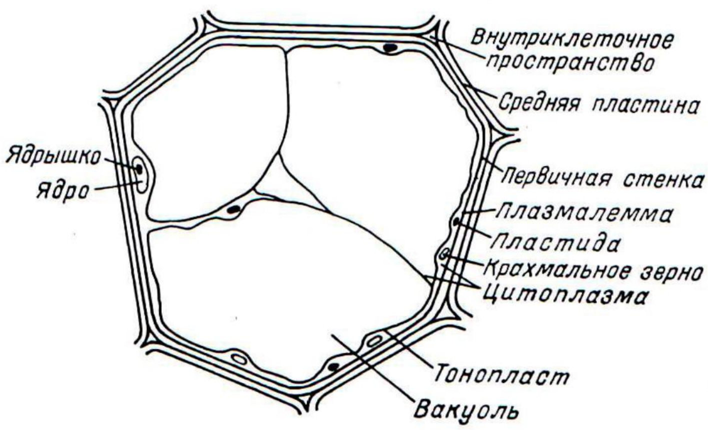

Рис.1 - Схематическое изображение растительной клетки.

Пектиновые вещества, выделенные из тканей высших растений в нативном состоянии, связаны с другими компонентами клеточной стенки растений и поэтому нерастворимы и их часто называют протопектином. Нерастворимость их связана также с присутствием двухвалентных катионов, таких как Ca^{2+}, который перекрестно связывается с пектиновой кислотой, увеличивая ее вязкость.

Кроме пектиновых веществ растения содержат многие другие полисахариды – целлюлозу, гемицеллюлозу, крахмал и другие полимеры (Таблица 1).

Таблица 1. – Полисахариды растительной ткани высших растений.

Основныевиды полисахаридов	Структурная характеристика
Целлюлоза	β-Д-Глюкан
Пектиновые вещества	Галактуронаны и рамногалактуронаны Арабинаны Галактаны и арабиногалактаны
Гемицеллюлоза	Ксиланы Галактоманнаны и глюкоманнаны β-Д-Глюканы Ксилоглюканы

Другие полисахариды	Арабиногалактаны Глюкурономаннаны

Как видно из таблицы 1 основными полисахаридами растительной ткани является целлюлоза, пектиновые вещества и гемицеллюлоза, в долевом соотношении которых целлюлоза и пектиновые вещества

составляют по 30% и гемицеллюлоза до 40% от сухой массы клеточных стенок.

Химический состав целлюлозы соответствует формуле $(C_6H_{10}O_5)_4$. По данным рентгеноструктурного анализа элементарной единицей целлюлозы является ангидроцеллобиоза. Молекула целлюлозы способна к агрегации и степень ее полимеризации варьирует от вида растений и является показателем, имеющим определенную видовую специфичность. Так максимальное значение молекулярной массы льна равно 6000000 Да, для целлюлозы древесины – 8000-8500и для целлюлозы волокон хлопчатника этот показатель составляет 2000-6000 Да.

Целлюлоза - основной компонент клеточной стенки растений, имеет мозаичную структуру, построенную соединением разнообразных полисахаридных и белковых полисахаридов, а также фенольных соединений (рис.2). Она является линейным полимером β-Д- глюкопиранозы, состоящим из 1000-10000 остатков β-Д-глюкозы [23].

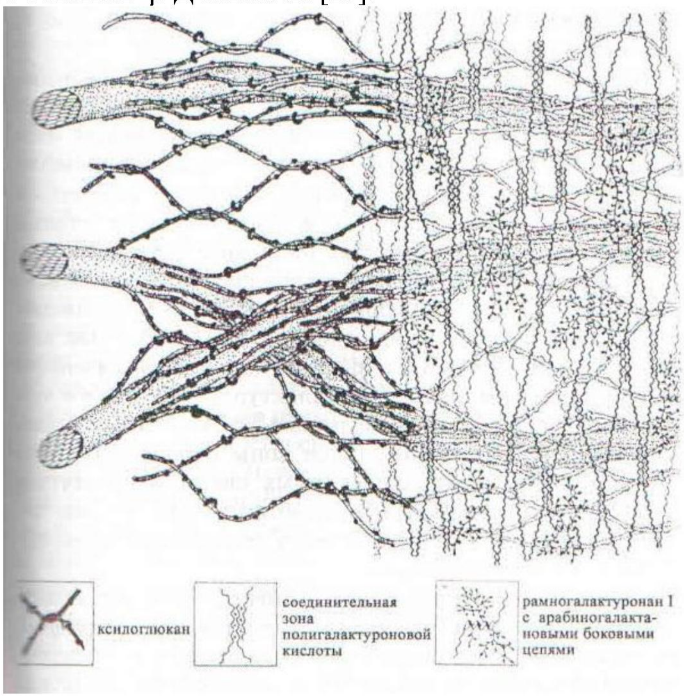

Рис. 2 - Целлюлоза клеточных стенок растений.

В клеточных стенках молекулярные цепи целлюлозы входят в состав надмолекулярных структур-микрофибрилл, состоящих из 60-70 целлюлозных нитей. Микрофибриллы объединяются в волокна – макрофибриллы, содержащие до 500000 молекул целлюлозы.

Предполагается, что микрофибриллыцеллюлозы зацементированные пектиновыми веществами в клеточной стенке растений после клеточной элонгации высвобождаются т.к. происходит замена целых пектиновых цепей. Синтезированный высокоэтерифицированный пектин, отложенный в клеточной стенке, замещает «старый» неэтерифицированный полимер, который может передвигаться в срединную пластинку. Этерификация изменяет свойства пектиновых веществ, тем самым облегчается доступ целлюлозоразрушающих и других ферментов к полисахаридам клеточной стенки.

Для эффективной деструкции некрахмалистых полисахаридов и других трудногидролизуемых веществ растительной ткани на наш взгляд необходимо прежде всего мацероватьее, которую могут осуществить комплекс пектинрасщепляющих ферментов. Изменение растительной ткани, вызываемые действием этих ферментов, свидетельствуют о первоначальном распаде пектиновых веществ, находящихся в срединных пластинах тканей высших растении и частично внедренных в клеточную стенку. Поэтому для того что бы полностью деградировать растительную ткань необходимо прежде еемацерировать, а затем действовать на целлюлозу клеточных стенок. Именно мацерирующие ферменты являются первыми и ведущими деструкторами растительной ткани. Затем уже целлюлозоразрушающие и другие ферменты еще глубже разрушают растительную ткань, освобожденную от цементирующих пектиновых веществ. Целлюлаза разрушает именно клеточную стенкурастении, усиливая мацерацию растительной ткани связанную с целлюлозой клеточной стенки растении, тем самым усиливая деградацию растительной ткани и высвобождая легко усвояемые углеводы.

Зная химический состав растительной ткани можно разработать оптимальную стратегию эффективной ферментативной деградации данной растительной ткани и определить наиболее важные ферменты участвующие в этом процессе.Из анализа литературных источников очевидно, что прежде чем изучать возможность гидролиза пектинсодержащих субстратов растительной ткани необходимо знания состава пектиновых веществ данного растения. Только после этого можно рекомендовать использование тех или иных пектинрасщепляющих ферментов относящихся к гидролазам, лиазам либо арабиназам, участвующих в расщеплении пектиновых веществ. Наиболее важные ферментативные комплексы, участвующие в деградации растительной ткани, на наш взгляд являются ферменты расщепляющие межклеточные вещества растительной ткани и комплексные ферменты деградирующие клеточную стенку растений, т.е. это ферментативный комплекс целлюлозоразрушающих и мацерирующих ферментов.

Мацерирующийкомплекс расщепляет сложные пектиновые полисахариды, которые в основном сконцентрированы в среднем тонком слое между клетками (рис.1) и входят частично в состав клеточных стенок растений. Согласно номенклатуре ферментов (1979) сложные пектиновые вещества расщепляются следующими ферментами: пектинэстеразой (ПЭ КФ 3.1.11), полиметилгалактуроназами (эндо ПМГ и экзо ПМГ) и полигалактуроназами (эндо ПГ. КФ 3.2.1.15 и экзо ПГ. КФ 3.2.1.40) . Кроме того открыт элиминативный путь ферментативного расщепления пектиновых веществ. Ответственными за реакцию трансэлиминирования является пектинлиазы (эндо ПЛ, КФ 4.2.2.10 и экзо ПЛ) и пектатлиазы (эндо ПкЛ, КФ 4.2.2.2. и экзо ПкЛ, КФ 4.2.2.9).

В целлюлазный комплектвходят также несколько ферментов: 1,4- β-Д-глюкан-глюканогидролаза, или эндоглюконаза (КФ 3.2.1.4); 1,4- β-Д-глюканцеллобиогидролаза или экзоцелебиогидролаза (КФ 3.2.1.91); 1,4- β-Д-глюканглюкогидролаза, или экзоглюкогидролаза (КФ 3.2.1.74); целлобиазы или β-глюказидазы (КФ 3.2.1.21) (Номенклатура ферментов, 1979).

Производство и использование в животноводстве и птицеводстве ферментных препаратов сдерживается из-за отсутствия высокоактивных штаммов микроорганизмов–продуцентов целевых ферментов отсутствием рентабельных технологии и их получения разработанных форм препаратов.

Для улучшения питательной ценности кормов в настоящее время уже применяют ферментные препараты, содержащие целлюлазы, гемицеллюлазы и пектиназы. Эффективность применения этих ферментов в рационах жвачных животных зависит от ряда особенностей ферментов: во-первых, они должны сохранять активность в кормах (в процессе приготовления, хранения и кормления) во-вторых, эффективно работать в пищеварительных органах животных. Ферменты не должны инактивироваться в желудочно-кишечном тракте птицы и животных при pH 2,0-5,0, проявлять ферментативную активность особенно в тонком отделе кишечника при pH 5,0-7,0 и соответствующей температуре.

По некоторым литературным данным испытания ферментных препаратов, содержащих целлюлазу и ксиланазу обеспечило получение прироста живого веса куринного рогатого скота на 35%, увеличение удоев молока на 5-25%.Однако имеются и такие результаты; когда корм содержащий большие количества магнина, кутикулы и других компонентов лигноцеллюлозы эффекта применения этих ферментов в разных жвачных животных отсутствует.

В настоящее время широкий спектр ферментных препаратов для кормопроизводства предлагают российские и литовские производители. Так, АО «Биосинтез» (Литва)производит мультиэнзимнуюкомпозицию «Вильзим М» в состав которых входит β-глюканаза, целлюлаза, амилаза, протеаза и фитаза [24]. Биотехнологическая компания Восток производит и реализует ферментные препараты, которые способствуют глубокой деструкции как клеточных стенок растительных клеток, так и отдельных полисахаридов: целлюлозы, ксилана, арабана и других некрахмалистых полисахаридов.

Из вышесказанного можно сделать следующие заключение: для биоконверсии растительных отходов и превращение их в полезные продукты питания для сельскохозяйственных животных необходимо в первую очередь осуществляет мацерацию растительной ткани с помощью пектинрасщепляющих ферментов. А затем подключать целлюлозоразрушающие ферменты. Поэтому необходимо провести поиск микроорганизмов обладающих способностью продуцировать эти ферменты. Это может быть не одна культура, а целый консорциум микроорганизмов. Поэтому для более глубокой биоконверсии сложных растительных полисахаридов, содержащихся в корме – в межклеточном пространстве и клеточных стенках растений, целесообразно сформировать ассоциацию микроорганизмов, которая обладала бы комплексом пектинрасщепляющихи целлюлозоразрушающихферментов, которые при совместном действии на растительную ткань осуществлял бы ее деструкцию с выделением легкоусвояемые углеводы.

ЛИТЕРАТУРА

[1] Vinken J.P., Schols H.A., Oomen R.J.F.J., McCann M.C., Voraqen A.Q.J. Visser R. G.F. If homoqalacturonan were a side chain of rhamnoqalacturonan I. Implication for cell architecture, Plan Physiol, 2003, vol 132, P.1781-1789.

[2] Wolfenden R., Shinder M.J. The depth of chemical time and the powder of enzyme as catalysts, Acc. Chem. Res, 2001, vol. 34, P. 938-945.

[3] Рабинович М.Л., Мельник М.С. Хвостатые ферменты, Природа, 2003.

[4] Willats W.G.T., Knox J.P., Mikkelsen J.D. Pectin: new insiqhts into in old polymer are starting to get, Trends Food Science Technol, 2006, Vol.17, P.97-104.

[5] Willats W.G.T., Mc. Cartaey L., Mackie W., Knox J.P. Pectin: cell biology and prospects for functional analysis, Plant, Mol.Biol, 2001, Vol.47, P. 9-27.

[6] Bedford M.R. Exogenous enzymes in monogastric nutrition – their current value and future benefits, Animal Feed Sci, Technol, 2000, Vol.86, P.1-13.

[7] Soetan K.O. The need for adequate processing to reduce the anti-nutritional factors ibn plants used as human foods and animal feeds: a review, African J.Food Sci., 2009, Vol.3, N 9, P.223-232.

[8] Harland B.F. Phytate: a good or a bad food component?, Nutritional Res., 1995, Vol.15, N5, P.733-754.

[9] Konietzny U. Molecular and catalytic properties of phytate-degrading enzymes (phytases), Int.J.Food Sci., Technol, 2002, Vol.37, P.791-812.

[10] Hill J. Microorganisms that utilize inositol phosphates in the environment, Inositol phosphates in the soil-plant-animal system: linking agriculture and environment: mater. Conf., Valley, Idaho, USA, 21-24 Aug., 2005, 44 p.

[11] Haefner S and et al. Biotechnological production and applications of phytases, Appl. Microbiol. Biotechnol., 2005, Vol.68, P. 588-597.

[12] Cao L. and et al. Application of microbial phytase in fish feed, Enzyme Microb. Thechnol., 2007, Vol.40, P.497-507.

[13] Jorquera M. and et al. Current and future biotechnological applications of bacterial phytases and phytase-producing bacteria, Microbes Environ., 2008, Vol.23, N 3, P.182-191.

[14] Vohra A. Phytates: microbial sources, production, purification, and potential biotechnological applications, Crit. Rev., Biotechnol., 2003, Vol.23, N 1, P.29-60.

[15] Wyss M. and et al. Biochemical characterization of fungul phytases (myo-inositol hexa-kisphosphate phosphohydrolases): catalytic properties, Appl. Environ. Microbiol., 1999, Vol.65, N2, P. 367-373.

[16] Yao Z. and et al. Phytases: crystal structures, protein engineering and potential biotechnological applications, J.Appl. Mikrobiol., 2011, Vol.112, P.1-14.

[17] Шляхотко, Е.А. Скрининг микроорганизмов, продуцирующих фитазу, Mikrobiologic biotechnology-the scientific intensive domain of modern knowiedge: Conf. Şt, Intern., Chişinău, Moldava, 6-8 Iul., 2011, P. 231-232.

[18] Сапунова, Л.И. Оптимизация синтеза вне клеточной фитазы бактериями *Bacillus amyloliquefaciens Ф-99*, Актуальные аспекты современной микробиологии: VIII Молодежная школа-конф., С междунар. Участием, Москва, 29-31 окт. 2012г, тез. Ин-т микробиологии им. С.Н. Виноградского РАН., М.:МАКС Пресс, 2012, С. 155-157.

[19] Шляхотко Е.А. Выделение и свойства фитаз, продуцируемых штаммами *Ф-12* и *Ф-99 Bacillus species*, Биология – наука XXI века: материалы Междунар. Конф., Москва , 24 май 2012г, ред. Р.Г. Василов.-М.:МАКС Пресс, 2012, С. 1061-1063.

[20] Сапунова Л.И. Выделение гена, кодирующего фитазу *Bacillus species Ф-99,* Л.И. Сапунова, Е.А. Шляхотко, А.Т. Лобанок, Генетика и биотехнология XXI века: проблемы, достижения, перспективы к 100 литию рожд. академика Н.В. Турбина, материалы научной конференции Минск 8-11 октября, 2012, 168 с.

[21] Лобанок А.Г., Михайлова Р.В., Сапунова Л.И. Некоторые аспекты биотехнологии ферментов: гидролаза и оксидоредуктаза, 2013, С. 504-522.

[22] Perez S. Mazeau K., Herve da Pentoat C. The three-dimensional structures of the pectic polysaccharides, Plant Physiol. Biochem., 2000, vol.38 (1/2), P. 37-55

[23] Carpita N.C., Gibeaut D.M. Structural models of primary cell walls in flowrina plants consistency of molecular structure with the physical properties of the walls durinaqrowth, Plaut I., 1993, vol 3, P. 1-30.

[24] Шоркунов В.А., Попков Н.А., Пономоренко Ю.А. и др. Комбикорма и кормовые добавки, МН., 2002, С. 420.

REFERENCES

[1] Vinken J.P., Schols H.A., Oomen R.J.F.J., McCann M.C., Voraqen A.Q.J. Visser R. G.F. If homoqalacturonan were a side chain of rhamnoqalacturonan I. Implication for cell architecture, Plan Physiol, 2003, vol 132, P.1781-1789.

[2] Wolfenden R., Shinder M.J. The depth of chemical time and the powder of enzyme as catalysts, Acc. Chem. Res, 2001, vol. 34, R. 938-945.

[3] Rabinovich M.L., Mel'nik M.S. Hvostatye fermenty, Priroda, 2003.

[4] Willats W.G.T., Knox J.P., Mikkelsen J.D. Pectin: new insiqhts into in old polymer are starting to get, Trends Food Science Technol, 2006, Vol.17, P.97-104.

[5] Willats W.G.T., Mc. Cartaey L., Mackie W., Knox J.P. Pectin: cell biology and prospects for functional analysis, Plant, Mol.Biol, 2001, Vol.47, P. 9-27.

[6] Bedford M.R. Exogenous enzymes in monogastric nutrition – their current value and future benefits, Animal Feed Sci, Technol, 2000, Vol.86, P.1-13.

[7] Soetan K.O. The need for adequate processing to reduce the anti-nutritional factors ibn plants used as human foods and animal feeds: a review, African J.Food Sci., 2009, Vol.3, N 9, P.223-232.

[8] Harland B.F. Phytate: a good or a bad food component?, Nutritional Res., 1995, Vol.15, N5, P.733-754.

[9] Konietzny U. Molecular and catalytic properties of phytate-degrading enzymes (phytases), Int.J.Food Sci., Technol, 2002, Vol.37, P.791-812.

[10] Hill J. Microorganisms that utilize inositol phosphates in the environment, Inositol phosphates in the soil-plant-animal system: linking agriculture and environment: mater. Conf., Valley, Idaho, USA, 21-24 Aug., 2005, 44 r.

[11] Haefner S and et al. Biotechnological production and applications of phytases, Appl. Microbiol. Biotechnol., 2005, Vol.68, P. 588-597.

[12] Cao L. and et al. Application of microbial phytase in fish feed, Enzyme Microb. Thechnol., 2007, Vol.40, P.497-507.

[13] Jorquera M. and et al. Current and future biotechnological applications of bacterial phytases and phytase-producing bacteria, Microbes Environ., 2008, Vol.23, N 3, P.182-191.

[14] Vohra A. Phytates: microbial sources, production, purification, and potential biotechnological applications, Crit. Rev., Biotechnol., 2003, Vol.23, N 1, P.29-60.

[15] Wyss M. and et al. Biochemical characterization of fungul phytases (myo-inositol hexa-kisphosphate phosphohydrolases): catalytic properties, Appl. Environ. Microbiol., 1999, Vol.65, N2, P. 367-373.

[16] Yao Z. and et al. Phytases: crystal structures, protein engineering and potential biotechnological applications, J.Appl. Mikrobiol., 2011, Vol.112, P.1-14.

[17] Shljahotko, E.A. Skrining mikroorganizmov, producirujushhih fitazu, Mikrobiologic biotechnology-the scientific intensive domain of modern knowiedge: Conf. Şt, Intern., Chişinău, Moldava, 6-8 Iul., 2011, P. 231-232.

[18] Sapunova, L.I. Optimizacija sinteza vne kletochnoj fitazy bakterijami Bacillus amyloliquefaciens F-99, Aktual'nye aspekty sovremennoj mikrobiologii: VIII Molodezhnaja shkola-konf., S mezhdunar. Uchastiem, Moskva, 29-31 okt. 2012g, tez. In-t mikrobiologii im. S.N. Vinogradskogo RAN., M.:MAKS Press, 2012, S. 155-157.

[19] Shljahotko E.A. Vydelenie i svojstva fitaz, produciruemyh shtammami F-12 i F-99 Bacillus species, Biologija – nauka XXI veka: materialy Mezhdunar. Konf., Moskva , 24 maj 2012g, red. R.G. Vasilov.-M.:MAKS Press, 2012, S. 1061-1063.

[20] Sapunova L.I. Vydelenie gena, kodirujushhego fitazu Bacillus species F-99, L.I. Sapunova, E.A. Shljahotko, A.T. Lobanok, Genetika i biotehnologija XXI veka: problemy, dostizhenija, perspektivy k 100 litiju rozhd. akademika N.V. Turbina, materialy nauchnoj konferencii Minsk 8-11 oktjabrja, 2012, 168 s.

[21] Lobanok A.G., Mihajlova R.V., Sapunova L.I. Nekotorye aspekty biotehnologii fermentov: gidrolaza i oksidoreduktaza, 2013, S. 504-522.

[22] Perez S. Mazeau K., Herve da Pentoat C. The three-dimensional structures of the pectic polysaccharides, Plant Physiol. Biochem., 2000, vol.38 (1/2), P. 37-55

[23] Carpita N.C., Gibeaut D.M. Structural models of primary cell walls in flowrina plants consistency of molecular structure with the physical properties of the walls durinaqrowth, Plaut I., 1993, vol 3, P. 1-30.

[24] Shorkunov V.A., Popkov N.A., Ponomorenko Ju.A. i dr. Kombikorma i kormovye dobavki, MN., 2002, S. 420.

Ауыл шаруашылығы қалдықтарын пайдалануда мацерациялаушы ферменттердің жетекші рөлі

Р.К. Блиева, А.К. Саданов, М.М. Шорманова
raubil@mail.ru
РМК «Микробиология және вирусология институты» ҚР БҒМ ҒК, Алматы

Кілтті сөздер: деструкция, қалдықтар, пектиназа, мацерация, жасұнық, полисахаридтер, монокультуралар, микромицеттер, ассоциация.

Аннотация. Ауылшаруашылық қалдықтарын тиімді утильдеуіне және оларды ауылшарушылық жануралары үшін пайдалы азық түріне айналдыру мақсатында, алдымен өсімдік ұлпасын мацерациялау керек. Өсімдік ұлпасын айтарлықтай өзгеріске алып келетін, жасушааралық кеңістіктегі әр түрлі пектинді заттардың гидролиздеуін, осы мацерациялық ферменттер орындайды. Әр түрлі ферменттер әсерінен ыдырайтын пектиндік заттарға: галактуронандар, рамногалактуронандар, арабинандар, галактандар мен арабиногалактандар жатады.Механизм жумысын және субстратты ерекшеліктерді ажырататын, өсімдік ұлпасының бірінші және алдыңғы деструкторы болып осы пектин ыдыратқыш ферменттер болып табылады.Оларға субстратты ерекшегімен ажыратылатын гидролаза-пектинметил-эстераза мен полигалактуроназа, сонымен қатар элиминативті механизмі бар ферменттер жатады. Содан соң целлюлоза ыдыратқыш және басқа да ферменттер, цементтегіш пектинді заттардан босатылған өсімдік ұлпасын одан әрі терең ыдыратыды Өсімдік ұлпасының мацерациясын күшейтіп және жеңіл сінімді комірсуларды босатып, целлюлаза өсімдіктің дәл сол жасушалық қабырғасын ыдыратады. Целлюлозаның энзиматикалық гидролизі эндоглюконаз, экзоглюконаз жәнеβ-глюкозидаз синергизмінің іс-әрекетіне негізделген. Эндоглюконазалар, целлюлаза тізбегіндегі қолжетімді интромолекулярлы β-1,4 глюкозидазалық байланыстардыжаңа тізбек түзе отырып ретсіз гидролиздейді. Глюкозаны түзе отырып, экзогюконаза целлюлоздық тізбекте, соңынан ыдырауды катализдейді;β-глюкозидаза целлобиозаны глюкозаға дейін гидролиздейді. Мацерациялаушы және целлюлозаны ыдыратушы ферменттерді жем өндірісінде қолданудың нашар дамуы несесе артқа қалуы бұл ферменттердің жоғары белсенді продуценттерінің жоқтығы болып табылады. Сондықтан өсімдік қалдықтарының биоконверсиясы үшін және оларды ауылшаруашылық жануарларына пайдалы азық түріне айналдыру үшін, алдымен осы ферменттердің белсенді продуценттерін іздеу керек. Бұл тек бір микроорганизм ғана емес, тұтас микроорганизмдер концорциумы болуы мүмкін. Сондықтан күрделі өсімдік полисахаридтердің тереңірек деструкциясы үшін, жем қурамындағы - өсімдік ұлпасының жасушааралық кеңістігінде және торша қабырғаларында белсенді мацерациялағыш, целлюлоза ыдыратқыш және басқа да ферменттерге ие болатын, жоғары белсенді микроорганизмдер ассоциациясын құру болып табылады.

Сведения об авторах

Блиева Раушан Кажкеновна – доктор биологических наук, профессор, РГП «Институт микробиологии и вирусологии» КН МОН РК, raubil@mail.ru

Саданов Аманкелди Курбанович - доктор биологических наук, профессор, генеральный директор РГП «Институт микробиологии и вирусологии» КН МОН РК

Шорманова Маржан Муратовна - младший научный сотрудник, РГП «Институт микробиологии и вирусологии» КН МОН РК, aishok_mar@mail.ru

Поступила 05.09.2015 г