

UDC 663.15.:577.15

DOI: 10.15587/2313-8416.2014.28766

TRAITEMENT DU FOURRAGE PAR DES ENZYMES COMPORTANT UN ENSEMBLE DES CELLULASES POUR L'AMELIORATION DE LEUR VALEUR ALIMENTAIRE

© Yu. Nekleva, S. Syrchin, V. Krasinko

Les cellulases se caractérisent par un large champ de leur application dans les différentes industries, comme celle de textile, alimentaire et en papeterie. On les utilise largement en agriculture, notamment pour la production du fourrage afin d'améliorer leur valeur alimentaire. Ce travail montre les données concernant les méthodes d'augmentation du débit des enzymes de cellulase synthésés par le micromycète Fennalia sp. 2608.

Mots-clés: cellulases, xylanase, glucose, activité – FPU, Fennellia sp. 2608, traitement préliminaire, fourrage.

Cellulases are characterized by high spectrum of their industrial applications, such as textile, food and paper industries. There is also wide use of cellulases in agriculture, in particular to increase the nutritional value of feed. This work presents methods to increase the yeild of enzymes of cellulolytic and hemicellulolytic complex, which are produced by micromycete Fennellia sp. 2608.

Keywords: cellulases, xylanase, endoglucanase, FPU-activity, Fennellia sp. 2608, preprocessing, feed.

1. Introduction

Les enzymes représentent les catalyseurs biologiques d'une grande activité et sans toxines d'origine protéique qui sont largement répandus dans la nature, et sans lesquels la réalisation d'un nombre de processus biochimiques dans et la vie elle-même est impossible [1].

L'utilisation des préparations des enzymes d'un différent degré d'épuration a permis non seulement d'améliorer le débit des processus biotechnologiques, mais aussi de perfectionner la fabrication du fourrage, d'améliorer la digestion du fourrage, de donner un but plus précis et rendre plus efficaces les agents de lavage synthétiques, d'améliorer la qualité des préparations cosmétiques, de créer toute une gamme des méthodes spécifiques, sensibles et précises, d'organiser la fabrication des préparations médicales, etc. [2].

Aujourd'hui les préparations multifermentés des cellulases sont largement utilisées dans l'élevage et l'aviiculture comme additifs des fourrage afin d'améliorer leur valeur nutritive, ainsi que pour sauvegarder la productivité des animaux et leur immunité [2].

2. Exposition du problème

L'utilisation des préparations des enzymes augmente la valeur énergétique du fourrage lors de sa fabrication et conduit à sa meilleure digestion, donc – vers l'augmentation de la productivité des animaux et de la volaille, vers le maintien de la productivité à condition d'insérer au mangeaille des composants difficilement digérés et d'accumulation rapide des produits bas-moléculaires aux oesophages des animaux, ce qui contribue au développement de la microflore endogène.

L'addition des enzymes des cellulases permet d'introduire dans la ration des animaux un nombre de céréales moins chères qui ont moins de valeur nutritive (orge, seigle, avoine), sans pourtant baisser l'expansion

de la masse corporelle des animaux, si on les compare avec la mangeaille qui comprend des céréales plus énergétiques et plus chères – le blé, le maïs (sans addition des enzymes) [3].

La recherche des producteurs actifs des enzymes de cellulase parmi les micromycètes est un des devoirs principaux des chercheurs dans les domaines de microbiologie, d'agriculture et de production du fourrage.

3. Revue littéraire

Le dernier groupe des enzymes utilisés dans le mangeaille des animaux comprend les cellulases, hémicellulases) amylolytiques, protéolytiques, cellulolytiques [4].

L'ensemble des cellulases représente un système des enzymes qui agissent ensemble et d'une façon complexe sur le substrat de cellulose et manifeste une synergie de l'action. Cet ensemble comprend : 1,4- β -D-glucanglucanohydrolase ou endoglucanase (KF 3.2.1.4), 1,4- β -D-glucancelobiohydrolase (exoglucanase ou celobiohydrolase KF 3.2.2.91), β -D-glucosydeglucohydrolase KF 3.2.1.21) [5].

Les cellulases ont un grand potentiel biotechnologique et constituent environ 30 % de produits de enzymes dans le monde.

Xylanase (KF 3.2.1.8) – se sont les enzymes qui décomposent la polysaccharide linéaire β - 1,4-xylane à l'état de xylose, de cette façon détruisant un des composants principaux des parois des cellules des plantes – l'hémicellulose.

Les xylanase sont utilisées à la fabrication de la mangeaille pour les animaux. Le yraitement des fourrages verts de la mangeaille avec les xylanases augmente la valeur nutritive de la mangeaille et améliore la digestion chez les ruminants.

Quelques détails sur l'utilisation des cellulases comme additifs à la mangeaille. Les animaux et le volaille ne produisent pas normalement eux-mêmes les enzymes précitées, et leur addition exogène à leur ration permet d'obtenir de bons résultats. Le plus grand effet est produit chez la progéniture dont sa propre microflore capable de produire les enzymes correspondants n'est pas encore formée. Par exemple à la nutrition des cochons on observe un effet positif le plus important seulement les premières semaines de la vie des animaux. Pour la volaille on a su obtenir le progrès positif pendant toute la période de la croissance, mais il faut dire que le meilleur effet est obtenu les premiers jours de leur vie [3].

C'est pour cette raison on peut considérer les préparations multifermantes à la base des cellulases qui comprennent aussi des autres carbohydrolases – xylinases, pectanases comme agents efficaces d'amélioration de la qualité de la mangeaille qui aujourd'hui sont très en demande. L'effet positif de l'utilisation des préparations d'enzymes comme additifs au fourrage ne peut pas s'expliquer uniquement par la réduction de la ténacité due à la détérioration des polysaccharides non-féculants. L'action des enzymes exogènes conduit à une plus grande détérioration des parois des cellules de grains ce qui libère un nombre d'albumens, des glycérides et d'amidon [2].

4. *Fennellia* sp. 2608, comme objet de recherche. Les méthodes du prétraitement (ou traitement préalable) du substrat

Objet d'examen – champignon mycélium *Fennellia* sp. 2608, qui est la culture de musée du secteur de la physiologie et de la systématique des micromycètes de l'Institut de la Microbiologie et de la Virologie D.K. Zabolotny de l'Académie des Sciences de l'Ukraine. La plantation du champignon a été faite à la température de 28 °C pendant 4 jours par le procédé abyssal dans le milieu Tchapek qui contenait (g/l):

- Paille préalablement travaillée - 5,0;
- NaNO₃ – 2,0;
- KH₂PO₄ – 1,0;
- MgSO₄ * 7H₂O – 0,5;
- FeSO₄ * 7H₂O – 0,01;
- KCl – 0,5.

Le traitement préalable de la paille a été fait pour obtenir des formes plus accessibles de la nutrition de *Fennellia* sp. 2608.

Le traitement préalable de la vasculose a été fait pour diminuer la cristallinité de la cellulose, d'augmenter la surface de la masse biologique des plantes, et séparer au maximum l'hémicellulose facilement digérée de la lignine mal digérée. La paille se caractérise par la présence d'une couche de la graisse et de la cire à la surface de la tige qui a la fonction de protection. Cette particularité de la matière première rend difficile la délignification et fait nécessaire d'utiliser des étapes supplémentaires de la transformation de la paille en produits fibreux.

Le traitement préliminaire comprend les méthodes physiques, chimiques et thermiques, ainsi que leurs combinaisons.

Comme la matière première en lignocellulose a

des différentes caractéristiques physiques et chimiques, il a fallu choisir une technologie la plus efficace de son traitement préalable suivant ces particularités établies. Les rejets agricoles et les arbres feuillus ont une basse teneur en lignine. Le traitement préalable se fait dans les conditions les plus douces pour ne pas admettre la formation du furfural (des pentoses) et d'oxyméthylfurfural (des hescoses) qui ont une influence négative sur l'état des micro-organismes, y compris des micromycètes lors de la fermentation [6].

Dans notre travail nous avons utilisé des étapes différentes du traitement préliminaire: nous avons combiné le traitement préliminaire par l'alcali, le traitement par micro-ondes en variant le temps du traitement.

Nous avons employé 8 combinaisons différentes du traitement préalables où nous avons changé 6 agents: concentration d'hydrate sodique, % (nous avons utilisé les concentrations de 2 % et de 5 %); la puissance des micro-ondes, W (nous avons utilisé les puissances de 450 W et de 900 W); la durée du rayonnement, min. (5 min. et 10 min.).

Les variantes du traitement préliminaire de la paille pour l'utiliser comme la source unique du carbone dans le processus de plantation de *Fennellia* sp. 2608 sont données au Tableau 1.

Tableau 1
Les variantes du traitement préliminaire de la paille

No de la variante	Concentration d'hydrate sodique, %	Puissance des micro-ondes, W	Durée du rayonnement
1	2	450	5
2	2	900	5
3	2	450	10
4	2	900	10
5	5	450	5
6	5	900	5
7	5	450	10
8	5	900	10

**5. Approbation des résultats de l'examen
Activité KMC (endoglucanase) de *Fennellia* sp. 2608 planté au substrat avec des combinaisons différentes du traitement préalable**

L'utilisation de la paille sans traitement préalable en tant qu'une seule source d'alimentation en carbone pour cultiver *Fennellia* sp. 2608 a permis d'obtenir l'accumulation maximale de l'activité carboxyméthylcellulose (du type KMC) au niveau de 0,24 unité/ml le troisième jour de la plantation (Fig. 1). La plantation du micromycète examiné dans la paille préalablement travaillée s'accompagnait d'une lente croissance de la biosynthèse des cellulases. Dans toutes les variantes du traitement préalable on observait un petit premier maximum d'activité le deuxième jour de la plantation et une stable croissance de l'activité du type KMC à partir du troisième jour. Le quatrième jour de la plantation dans le milieu qui a subi le traitement préalable No 6 (concentration d'hydrate sodique – 5 %, puissance de micro-ondes 900 W, durée de rayonnement

5 minutes) on a obtenu l'activité du type KMC au niveau de 0,4 unité/ml, ce qui dépassait de plus de deux fois cet indice pour le milieu de la paille sans traitement. On observait des indices assez bons de la synthèse des cellulases d'une action exogène aux milieux où la paille avait été travaillée selon les variantes No 8, No 5, No 2 (Tableau 1, Fig. 1).

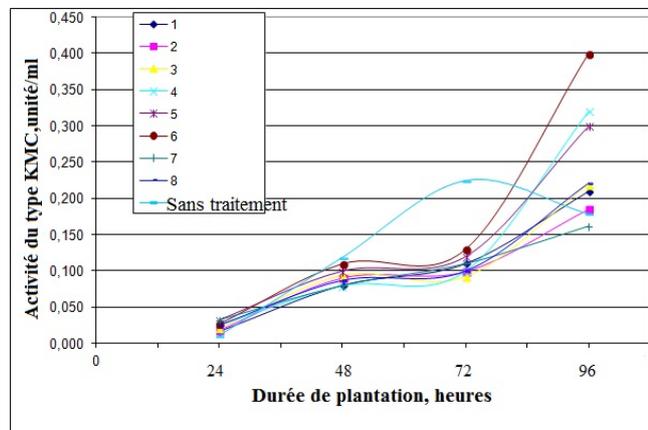


Fig. 1. Activité du type KMC de *Fennellia* sp. 2608 au substrat préalablement travaillé

Activité FPU lors de la croissance au substrat avec des différentes combinaisons du traitement préalable

On observait une activité endoglucanase zymotique élevée de la culture de *Fennellia* sp. 2608 dans le milieu nutritif avec les variantes du traitement préalable de la paille No 5 et No 7 déjà le deuxième jour de la plantation (Fig. 2), ce qui est un très bon indice de l'activité économique du processus technologique. On observait le plus haut niveau de la synthèse des endoglucanases le 4-ième jour de la plantation, la variante No 3 du traitement préalable du substrat a été utilisée.

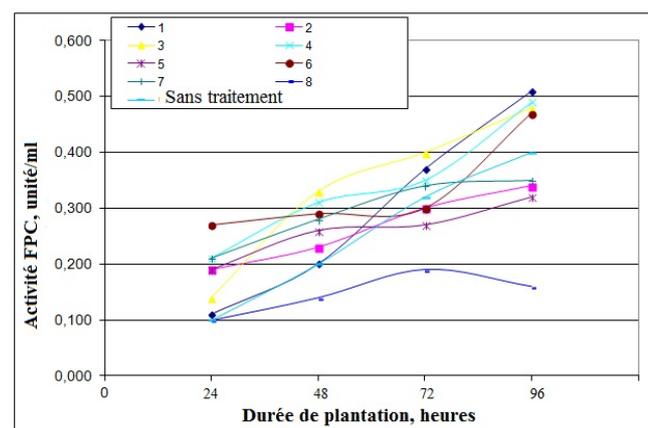


Fig. 2. Activité du type FPC de *Fennellia* sp. 2608 au substrat préalablement travaillé

La variante sans traitement préalable du substrat avait une dynamique positive de la stimulation de la synthèse des endoglucanases pendant tous les jours de la plantation, donc le sommet d'activité s'observait le 4-ième jour.

D'où on peut tirer la conclusion que les agents du

traitement préalable que nous avons choisi n'ont pas d'influence importante sur l'activité endoglucanase (FPU) mesurée sur le papier filtre.

Activité xylanase lors de la croissance au substrat avec des différentes combinaisons du traitement préalable

La dynamique des changements de l'activité xylanase avait un caractère synchrone dans presque toutes les variantes de l'expérience, sauf la variante de la plantation du producteur au milieu de la paille sans traitement préalable, et se caractérisait par des indices importants (de 16 à 22 unité/ml) déjà le premier jour (Fig. 3). La variante sans traitement préalable donnait de bons indices d'activité (18 unité/ml) le troisième jour.

La plus grande activité de la synthèse d'enzyme on observait à la plantation au milieu avec la variante No 8 du traitement préalable de la paille.

Donc, vu que sur le plan économique il serait bien d'abrégier la durée de la plantation, on peut juger réussie l'utilisation de la paille préalablement travaillée pour l'intensification de la biosynthèse de xylanase *Fennellia* sp. 2608.

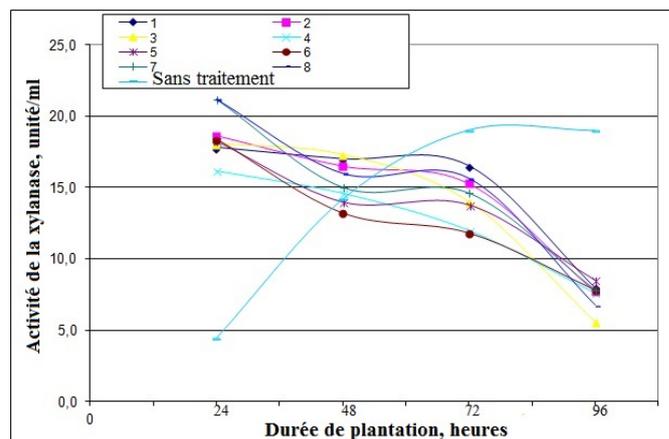


Fig. 3. Activité xylanase de *Fennellia* sp. 2608 au substrat préalablement travaillé

6. Conclusions

Suite aux recherches réalisées il a été constaté le suivant:

- L'activité du type KMC élevée s'observait dans une variante suivante du traitement préalable: concentration d'hydrate sodique - 2 %, puissance des micro-ondes - 450 W, durée du rayonnement 5 min.

- Les plus grands indices de l'activité FPU s'observaient à l'utilisation des paramètres suivants du traitement préalable: concentration d'hydrate sodique - 2 %, puissance des micro-ondes - 450 W, durée du rayonnement 5 min.

- La paille préalablement travaillée d'après les indices de la concentration d'hydrate sodique - 5 %, puissance des micro-ondes - 900 W, durée du rayonnement 10 min., induit d'une façon active la synthèse de la xylanase, dont le sommet d'activité s'observe déjà un jour après la plantation.

- Les milieux nutritifs avec de la paille préalablement travaillée sont perspicaces pour les futurs

examens car il donnent des indices améliorés de l'activité enzymatique et réduisent la durée de la plantation.

Pièces utilisées

1. Karmakar, M. Current trends in research and application of microbial cellulases [Text] / M. Karmakar, R. Ray, J. Res. // Microbiol. – 2011. – Vol. 4, Issue 6. – P. 41–53. doi: [10.3923/jm.2011.41.53](https://doi.org/10.3923/jm.2011.41.53)
2. Sheveluha, E. A. Agricultural biotechnology [Text] / E. A. Sheveluha – Moscow: Higher School, 2004. – 265 p.
3. Cheshkova, A. V. Using bioprocess at finish mixture of fabrics and claps chemical fibers [Text] / A. V. Cheshkova // Chemical fiber. – 2007. – Vol. 4. – P. 52–54.
4. Daison, B. Biocatalytic conversion of lignocellulose to platform chemicals [Text] / B. Daison, K. Konnelly // Biotechnology. – 2012. – Vol. 43. – P. 13–21.
5. Kumar, D. Stochastic molecular model of enzymatic hydrolysis of cellulose for ethanol production [Text] / D. Kumar, G. S. Murthy // Biotechnology for Biofuels. – 2013. – Vol. 6, Issue 63. – P. 20.

6. Beguin, P. The biological degradation of cellulose [Text] / P. Beguin, P. Aubert // FEMS Microbiol. Rev. – 2005. – Vol. 14, Issue 3. – P. 5–58.

References

1. Karmakar, M., Ray, R., Res, J. (2011). Current trends in research and application of microbial cellulases. Microbiol., 4 (6), 41–53. doi: [10.3923/jm.2011.41.53](https://doi.org/10.3923/jm.2011.41.53)
2. Sheveluha, E. A. (2004). Agricultural biotechnology. Higher School, 265.
3. Cheshkova, A. V. (2007). Using bioprocess at finish mixture of fabrics and claps chemical fibers. Chemical fiber, 4, 52 – 54.
4. Daison, B. J., Konnelly, K. (2012). Biocatalytic conversion of lignocellulose to platform chemicals. Biotechnology, 43, 13–21.
5. Kumar, D., Murthy, G. S. (2013). Stochastic molecular model of enzymatic hydrolysis of cellulose for ethanol production. Biotechnology for Biofuels, 6 (63), 20.
6. Beguin, P., Aubert, P. (2005). The biological degradation of cellulose. FEMS Microbiol. Rev., 14 (3), 5–58.

Рекомендовано до публікації д-р біол. наук Пирог Т. П.
Дата надходження рукопису 24.10.2014

Nekleva Yulia, Étudiante, ingénieur de la 1e catégorie, La chaire de biotechnologie et microbiologie, Université Nationale de Technologie Alimentaire, Institut de Microbiologie et Virologie Zabolotny de l'Académie nationale des Sciences, 68, rue Volodymyrska, 01601 Kyiv-33, Ukraine, 154, rue Akademika Zabolotnogo, Kyiv, région de Kyiv, 03680

E-mail: pasikyulia@gmail.com

Krasinko Viktoriia, Docteur ès sciences techniques, maître de conférences, La chaire de biotechnologie et microbiologie, Université Nationale de Technologie Alimentaire, 68, rue Volodymyrska, 01601 Kyiv-33, Ukraine

E-mail: vkrasinko@ukr.net

Syrchin Serhii, Docteur ès sciences biologiques, chercheur en chef, Département de Physiologie et de Systématique des Micromycètes, Institut de Microbiologie et Virologie Zabolotny de l'Académie nationale des Sciences, 154, rue Akademika Zabolotnogo, Kyiv, région de Kyiv, 03680

E-mail: syrchin@ukr.net

УДК 636.4:577.115:612.176

DOI: [10.15587/2313-8416.2014.29418](https://doi.org/10.15587/2313-8416.2014.29418)

ВМІСТ ФОСФОЛІПІДІВ У КРОВІ СВИНЕЙ ЗА УМОВ СТРЕСУ

© С. С. Грабовський, О. С. Грабовська, А. З. Пилипець

Стаття присвячена дослідженню вмісту окремих фракцій фосфоліпідів у плазмі крові свиней перед забоєм. Як біологічно активні речовини у передзабійний період (за 5 днів до забою) застосовували екстракт селезінки, отриманий з використанням ультразвуку (I дослідна група). Встановлено вплив біологічно активних речовин з екстракту селезінки за умов передзабійного стресу на вміст окремих фракцій фосфоліпідів у плазмі крові свиней.

Ключові слова: передзабійний стрес, екстракт селезінки, свині, плазма крові, фосфоліпіди.

The article is devoted to the researching of some phospholipids content in pigs' blood plasma before slaughter. Obtained with the application of ultrasound spleen extract as the biologically active substances has been additionally entered to the pigs feed (I experimental group) at 5 days before slaughter. The results about influence biologically active compounds from the spleen extract at for pre-slaughter stress on separate phospholipids classes content in pigs' blood plasma were obtained.

Keywords: pre-slaughter stress, spleen extract, pigs, blood plasma, phospholipids.

1. Вступ

На стан організму сільськогосподарських тварин під впливом передзабійного стресу, а згодом і на людину, яка споживає продукцію від цих тварин, зовсім не звертається увага. У літературі обмаль

повідомлень про передзабійний стрес у тварин. Проте, нашими попередніми дослідженнями [1] було показано позитивний вплив антистресорів та імуномодуляторів природного походження (екстракт селезінки) на окремі класи ліпідів та фракції