

**ІНУЛІНАЗНА ТА ЛЕВАНАЗНА АКТИВНІСТЬ У БЕЗКЛІТИННОМУ
ЕКСТРАКТІ БАКТЕРІЙ РУБЦЯ ОВЕЦЬ**

М. Сабат¹, Р. Іскра²

*¹ЛНУВМ та БТ імені С.З. Гжицького
вул. Пекарська, 50, Львів 79010, Україна*

*²Інститут біології тварин НААН України
вул. Стуса, 38, Львів 79034, Україна
e-mail: mariana.sabat@gmail.com*

M. Sabat, R. Iskra. INULINASE AND LEVANASE ACTIVITY IN EXTRACELLULAR EXTRACT OF SHEEP RUMEN BACTERIA. It was done the determination of the activity of inulinase and levanase in extracellular extract of sheep rumen bacteria, which within twenty-one days were fed with natural fructanes and clinoptilolite sorbent. As a result of searches it was found an increased activity of inulinase under conditions of animals feeding with inulin and levane as well as for the actions of levanase and levane. It was observed the increase of inulinase and levanase activities throughout the period of feeding under the influence of sorbent.

Фруктани (глюкофруктани) – полісахариди, побудовані із залишків D-фруктози; знайдені у вищих рослинах, зелених водоростях і бактеріях. Фруктани – продукти трансфруктозилювання сахарози, тому кожна молекула містить один залишок D-глюкози, який не виявляє відновлювальних властивостей. Щоб засвоїтися в організмі жуйної тварини, фруктани спочатку розщеплюються мікробною біомасою, пізніше можуть всмоктуватись у травному тракті. Ензими, що гідролізують різні фруктани, належать до β -фруктофуранозидаз. Багато з них здатні розщеплювати більше ніж один субстрат. У літературі є багато даних про властивості фруктангідролаз бактерій рубця, проте досі не досліджені їхні активності й кінетичні параметри за впливу кліноптилоліту, що і визначило мету нашої роботи.

Проведено визначення активності інулінази та леванази у безклітинному екстракті бактерій рубця овець, яким упродовж 21 доби згодовували природні фруктани та сорбент кліноптилоліт.

У результаті виконання досліджень було встановлено, що на другу добу експерименту зростає активність інулінази у 5 разів за умов дії інуліну, порівняно з контрольною групою. Ця активність ще підвищилася на 17 % до 14-ї доби, а після припинення згодовування інуліну – різко знизилася майже до контрольних значень. За впливу сорбенту спостерігалася збільшення інуліназної активності на 18–30 % протягом усього періоду згодовування. Відомо, що цей фермент також здатний гідролізувати рафінозу, сахарозу та леван, тобто проявляти хімічну активність не лише щодо $\beta(2\rightarrow1)$ -, але і до $\beta(2\rightarrow6)$ -фруктозидних зв'язків олігофруктозидів. Як показали результати досліджень, активність інулінази за умов згодовування левану на другу добу була удвічі більшою, порівняно з контролем, і зростала протягом 7, 14 та 21-ї діб. За наявності сорбенту в кормах активність ферменту зростала на 10–31 %. Очевидно, що через великі розміри молекули левану його гідроліз був менш інтенсивним, порівняно з інуліном.

Вивчали також активність леванази у безклітинному екстракті рубця тварин, яким упродовж 21 доби додавали до корму природні фруктани та кліноптилоліт, а також через 10 діб після припинення згодовування. Спостерігали зростання активності досліджуваного ферменту в 4–8 разів, порівняно з контролем, під час згодовування левану тваринам упродовж

21 доби. Через 10 діб після припинення згодовування активність зменшилася та була удвічі більшою, ніж контрольне значення. За наявності сорбенту в кормах активність леванази зростала протягом усього періоду згодовування на 12–18 %, порівняно з тваринами, які його не споживали. Визначали леваназну активність у рубцевій рідині тварин, яким до складу основного раціону додавали інулін та його суміш із кліноптилолітом. Проте значення активності ензиму не відрізнялися від контрольних. Це підтверджує припущення про те, що леваназа не здатна гідролізувати інулін.

Виконано кінетичний аналіз реакції гідролізу фруктанів інуліназою та леваназою, що проводили у стандартному середовищі інкубування, яке модифікували за фізико-хімічними параметрами (температура, рН) та вмістом субстратів. Визначали константу Міхаеліса за умов насичення субстратом (инуліном і леваном) та максимальну швидкість реакції гідролізу методом Лайнуївера–Берка. Було визначено температурний (30–40 °С) і рН-оптимум (4–6) активності інулінази та леванази. Встановлено, що зі збільшенням концентрації як інуліну, так і левану від 0,1 до 0,4–0,5 мМ відбувалося монотонне наростання ензиматичних фруктангідролазних активностей до їхніх максимальних значень, після чого вони підтримувалися на незмінному рівні. За наявності кліноптилоліту спорідненість обох гідролаз до субстратів підвищувалася.