

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(21) 202390862 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2023.06.29(22) Дата подачи заявки
2021.04.29

(51) Int. Cl. *A23L 33/21* (2016.01)
A23J 1/14 (2006.01)
A23J 3/34 (2006.01)
A23K 10/12 (2016.01)
A23K 10/14 (2016.01)
A23K 10/16 (2016.01)
A23K 10/30 (2016.01)
A23K 10/37 (2016.01)
A23K 50/30 (2016.01)
A23K 50/75 (2016.01)
A23L 7/104 (2016.01)
A23L 7/10 (2016.01)
C12N 9/42 (2006.01)
C12P 19/14 (2006.01)
A23K 50/10 (2016.01)
A23K 50/60 (2016.01)
A23L 25/00 (2016.01)
A23L 33/105 (2016.01)
C12N 9/14 (2006.01)
A23K 20/163 (2016.01)

(54) КОРМОВОЙ ИЛИ ПИЩЕВОЙ ИНГРЕДИЕНТ, ПОЛУЧАЕМЫЙ ИЗ БОГАТОЙ КЛЕТЧАТКОЙ БИОМАССЫ СОЕВОЙ ШЕЛУХИ

(31) 20199889.5

(32) 2020.10.02

(33) EP

(86) PCT/EP2021/061281

(87) WO 2022/069084 2022.04.07

(71) Заявитель:

ХАМЛЕТ ПРОТЕИН А/С (DK)

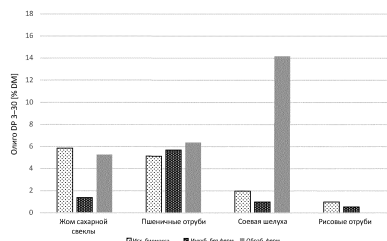
(72) Изобретатель:

Тхирап Лайла, Брёкнер Кристин,
Диков Джонатан А., Расмуссен
Перниль Тофт (DK)

(74) Представитель:

Нагорных И.М. (RU)

(57) В настоящем изобретении предложен кормовой или пищевой ингредиент из соевой шелухи, который содержит пищевые волокна из соевой шелухи в виде растворимых и нерастворимых полисахаридов, и при этом пищевые волокна из соевой шелухи были частично расщеплены одной или более карбогидразами, выбранными из маннаназ, пектиназ, ксиланаз, глюканиз и целлюлаз, на олигосахариды, имеющие от 3 до 30 мономерных сахарных звеньев (олигосахариды DP 3-30), причем кормовой или пищевой продукт содержит 5 мас.% или менее моносахаридов.



A1

202390862

202390862

A1

КОРМОВОЙ ИЛИ ПИЩЕВОЙ ИНГРЕДИЕНТ, ПОЛУЧАЕМЫЙ ИЗ БОГАТОЙ КЛЕТЧАТКОЙ БИОМАССЫ СОЕВОЙ ШЕЛУХИ

ОБЛАСТЬ ТЕХНИКИ

5 Настоящее изобретение относится к кормовому или пищевому ингредиенту, получаемому из богатой клетчаткой биомассы соевой шелухи, способу получения кормового/пищевого ингредиента, применению кормового/пищевого ингредиента и кормовому или пищевому продукту, содержащему кормовой/пищевой ингредиент.

УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ

10 Клетчатка приобретает все большее значение в альтернативном кормлении продуктивных животных. Раньше клетчатку считали антипитательным фактором, который снижает концентрацию энергии и перевариваемость корма, что приводит к ухудшению показателей продуктивности и состояния животных. Однако все больше доказательств, появляющихся за последние два-три десятилетия, показали, что определенное количество клетчатки полезно для функционирования и развития
15 здорового кишечника животного; Agyekum и Nyachoti (2017), Molist и др. (2009). Как содержание растворимых и нерастворимых некрахмальных полисахаридов (NSP), так и содержание пребиотических олигосахаридов является частью пищевых волокон, которая может оказывать положительное воздействие на животное. Вообще, клетчатку в настоящее время интенсивно исследуют как одно из решений для ограничений на
20 использование антибиотиков и цинка в животноводческой отрасли. С уменьшением использования антибиотиков и цинка будут ухудшаться продуктивность, расти заболеваемость и чаще возникать диарея, а это серьезная проблема.

25 При кормлении моногастрических животных все больше используют специальные источники клетчатки. Соевая шелуха является таким специальным источником клетчатки с высоким ее содержанием вообще и нерастворимой клетчатки в частности. Авторы настоящего изобретения, к своему удивлению, обнаружили, что при обработке
30 содержащей клетчатку биомассы соевой шелухи специальными ферментами, специфичными к углеводам, клетчатка может высвобождать довольно большое количество олигосахаридов по сравнению со многими другими природными биомассами с высоким содержанием клетчатки. В зависимости от типа применяемых специфичных ферментов характер олигосахаридов, высвобождаемых из соевой
шелухи и других биомасс, может отличаться.

35 В некоторых видах кормления животных теперь принято добавлять «экзогенные» ферменты в конечный состав рациона, но фермент не действует, пока он будет потреблен вместе с остальной частью рациона, работая в кишечной среде животного (Kiarie и др. 2013, Scarini и др. 2018). Использование карбогидразных ферментов в качестве способствующего продуктивности средства для повышения содержания

пребиотического олигосахарида кормовых биомасс было описано лишь в ограниченной степени. Ожидается, что потенциальный эффект некоторых олигосахаридов будет пребиотическим, когда обогащенный олигосахаридами источник скармливают продуктивным животным, таким как, например, свиньи и домашняя птица, что приводит к повышению продуктивности и здоровья животных. В случае пищевых продуктов для людей или в исследовательских целях биомассу обрабатывали ферментами и/или физическими/химическими средствами для получения, экстракции и очистки пребиотических олигосахаридов. В качестве альтернативы для такого же использования химически синтезировали и очищали некоторые пребиотические продукты (например, полидекстрозу, декстрин). Продукты такого типа дорогостоящие и поэтому не используются в значительной степени в корме для животных; Babber и др. (2015); Achary и Prapulla (2011); Доценко и др. (2017); Kurakake и др. (2006).

Сегодня, судя по всему, на рынке нет кормовых или пищевых продуктов, получаемых из соевой шелухи обработкой карбогидразными ферментами, имеющих повышенное содержание специализированных олигосахаридов по сравнению с необработанной соевой шелухой. Как и нет в известном уровне техники какого-либо описания обработанной карбогидразными ферментами соевой шелухи; в некоторой литературе описано лишь то, что перед скармливанием в рацион может быть добавлена соевая шелуха вместе с внешним источником карбогидразного фермента.

Авторы настоящего изобретения проверили различные продукты из соевой шелухи, обработанной специфичными к углеводам ферментами, такими как маннаназа, ксиланаза или пектиназа, в испытаниях по кормлению поросят и в экспериментах *in vitro* на поросятах, и обнаружили улучшенные характеристики по сравнению с контрольной группой.

Целью настоящего изобретения является создание нового кормового или пищевого ингредиента особого состава, получаемого из богатой клетчаткой растительной биомассы соевой шелухи.

Другой целью является создание, на выгодной основе с точки зрения затрат на применяемые ферменты, специфичные к углеводам, нового улучшенного кормового или пищевого ингредиента, получаемого из соевой шелухи, который содержит как определенное количество сложных углеводов в виде пищевых волокон, так и повышенное количество пребиотических олигосахаридов, полученных под действием ферментов, специфичных к углеводам, что выгодно при применении в рационе животных или человека.

Еще одной целью является создание нового кормового или пищевого ингредиента, который может быть получен обработкой соевой шелухи ферментами, специфичными к углеводам.

- 5 Кроме того, целью является создание улучшенного кормового или пищевого ингредиента, содержащего пребиотические олигосахариды, имеющие более высокую перевариваемость по сравнению с необработанной (исходной) соевой шелухой.

- 10 Наконец, целью является создание нового продукта с высокой водосвязывающей способностью и низкой вязкостью; оба эти свойства важны для применения продукта в рационе животных.

Эти цели достигаются с помощью продукта согласно настоящему изобретению.

РАСКРЫТИЕ СУЩНОСТИ ИЗОБРЕТЕНИЯ

- 15 Соответственно, первый аспект настоящего изобретения относится к кормовому или пищевому ингредиенту, получаемому из соевой шелухи, причем кормовой или пищевой ингредиент содержит пищевые волокна из соевой шелухи в виде растворимых и нерастворимых полисахаридов, и при этом пищевые волокна из соевой шелухи являются частично расщепленными одной или более карбогидразами,
- 20 выбранными из маннаназ(ы), пектиназ(ы), ксиланаз(ы), глюканаз(ы) и целлюлаз(ы), на олигосахариды, имеющие от 3 до 30 мономерных сахарных звеньев (олигосахариды со степенью поляризации (DP) 3–30), причем кормовой или пищевой продукт содержит 5 мас.% или менее моносахаридов.

- 25 В контексте настоящего изобретения олигосахариды DP 3–30, полученные из пищевых волокон, не содержат раффинозу, стахиозу и вербаскозу.

- К своему удивлению авторы настоящего изобретения обнаружили, что при обработке ряда различных богатых клетчаткой растительных биомасс выбранными
- 30 карбогидразами, а именно, ферментами, действующими на сложные полисахариды, соевая шелуха выделялась на фоне остальных как биомасса, из которой можно было высвободить довольно большое количество олигосахаридов. Кроме того, ряд выбранных маннаназ, пектиназ, ксиланаз, целлюлаз и β -глюканаз продуцируют значительное количество олигосахаридов из соевой шелухи по сравнению с тем, что
- 35 обычно наблюдается для других биомасс. Ожидается, что в зависимости от своих химических характеристик некоторые из этих олигосахаридов могут действовать как пребиотики в корме животных или пище для людей.

- 40 Также удивительно, что такие продукты, когда их применяют в рационе животных, могут повышать продуктивность животных, например продуктивность поросят и

домашней птицы. Авторы изобретения подтвердили это в испытаниях по кормлению поросят. Известными механизмами действия, лежащими в основе повышенной продуктивности при использовании пребиотических олигосахаридов, являются: улучшение/стабилизация здорового сообщества микроорганизмов в кишечнике, уменьшение риска кишечной инфекции и воспаления, улучшение кишечных функций (объемообразование, регуляция и консистенция стула), улучшение функции кишечного барьера, регуляция/модуляция иммунных функций и модуляция пептидной продукции для желудочно-кишечного тракта и энергетического обмена; Roberfroid и др. (2010). Наиболее известными и наиболее изученными олигосахаридами являются фруктоолигосахариды (ФОС); Ghoddusi и др. (2007); Probert и др. (2004), обычно получаемые из инулина; и маннанолигосахариды (МОС); Corrigan и др. (2015); Zivkovic и др. (2011); Kim и др. (2010). В случае МОС хорошо задокументировано действие именно того типа МОС, которые получены из стенок дрожжевой клетки. Они представляют собой разветвленные маннаны со связями α -1,3- и α -1,6. Примерами новых перспективных групп пребиотических олигосахаридов являются: ксилоолигосахариды (КОС); Liu и др. (2018); Moura и др. (2008); Achary и Prapulla (2011); Доценко и др. (2017); Nielsen и др. (2014); получаемые из пектина олигосахариды (ПОС); Babber и др. (2015); Chung и др. (2017); Strube и др. (2015); и получаемые из β -глюкана олигосахариды; Meyer и др. (2015); Míguez и др. (2016). Из лактозы могут быть синтезированы галактоолигосахариды (ГОС), также являющиеся новым пребиотическим олигосахаридом; Torres и др. (2010). Химическими характеристиками, играющими важную роль в наличии или отсутствии пребиотического действия олигосахарида, являются тип химических связей между сахарными фрагментами, идентичность сахарных молекул и их ветвление; Markowiak и Slizewska (2018); Pourabeden и Zhao (2015), Kim и др. (2019).

Для свиней рекомендуемое количество МОС в корме для животных составляет примерно 0,25– 0,5% конечного состава корма, а рекомендуемое количество ФОС — примерно 0,03–1,25% состава корма. Maribo (2005): «Tilsætningsstoffer til svin. Landsudvalget for svin». Это подтверждает идею о том, что даже малые количества олигосахаридов, добавляемых в корм продуктивных животных, имеют значение.

В соответствии со вторым аспектом изобретение относится к способу получения кормового или продуктового ингредиента согласно изобретению, включающему следующие этапы:

- смешивание соевой шелухи с одной или более карбогидразами, выбранными из маннаназ, пектиназ, ксиланаз, глюканаз или целлюлаз;
- гидролиз смеси в условиях, когда содержание сухого вещества (СВ) составляет 55 мас.% или менее, в течение периода времени от 1 до 48 часов при температуре от 20 до 60 °С;
- необязательно, полная инактивация действия одной или более карбогидраз; и

- изолирование кормового или пищевого ингредиента.

5 В изобретении также предложен кормовой или пищевой продукт или пищевая добавка для продуктивных животных, содержащая от 0,5 до 99 мас.% кормового или пищевого ингредиента согласно изобретению, такой как кормовой продукт для применения в

рационе для продуктивных животных, предпочтительно новорожденных и молодых животных, таких как поросята, телята и домашняя птица, нуждающихся в пребиотических олигосахаридах.

10 **Определения**

В контексте настоящего изобретения нижеприведенные термины означают следующее, если только они не определены где-либо еще в описании.

15 Термин «содержащий» следует трактовать как указывающий на наличие перечисленных частей, этапов, признаков, композиций, химикатов или компонентов, но не исключая наличия одной или более дополнительных частей, этапов, признаков, композиций, химикатов или компонентов. Например, композиция, содержащая химическое соединение, может, таким образом, содержать дополнительные химические соединения и т. д.

20

Биомасса:

Содержит биологический материал, который получается в результате фотосинтеза и может быть использован в промышленном производстве. В данном контексте под биомассой понимают богатый клетчаткой растительный материал в виде соевой

25 шелухи. Соевая шелуха может применяться в исходном виде или в измельченном и/или предварительно обработанном виде в зависимости от ее характера и подхода специалиста и к конкретному исходному материалу.

Продукты соевых бобов:

30 Относится к растительному материалу в виде продуктов из соевых бобов, в данном контексте, в частности, к продуктам из соевой шелухи и их смесям. Соевые бобы могут быть из любого источника соевых бобов, например, из Южной или Северной Америки, или Азии, или Европы, и могут быть генно-модифицированного происхождения (ГМО) или негенномодифицированного происхождения (не-ГМО).

35

Соевая шелуха

Соевая шелуха является специальным источником клетчатки с высоким ее содержанием вообще и нерастворимой клетчатки в частности, а также содержит некоторое количество белка. Соевая шелуха является побочным продуктом

40 переработки соевых бобов и состоит из оболочки соевых бобов. Соевая шелуха

содержит сложные углеводы, такие как пектин, гемицеллюлозы и целлюлоза, и является хорошим источником пищевых волокон.

Измельченный:

5 Означает, например, измельченный химическими или физическими средствами в соответствии со способами, известными в данной области, например, дроблением, перемалыванием, варкой и/или кислотной или щелочной обработкой. Специалист знает, потребуется ли измельчение, и, если потребуется, какое измельчение может подойти для конкретной растительной биомассы, применяемой в изобретении.

10

Олигосахариды:

Олигосахарид обычно определяют как олигомер сахара, содержащий небольшое количество (3–10) составляющих мономерных сахаров. В контексте настоящего изобретения олигосахарид определяется более широко и может представлять собой олигомер сахара, содержащий от 3 до 30 мономерных сахарных звеньев.

15

Олигосахариды с 3–30 сахарными звеньями/олигосахариды DP 3–30

В контексте настоящего изобретения эти термины обозначают олигомеры сахара, содержащие 3–30 мономерных сахарных звеньев и являются признаком, применяемым при определении настоящего нового продукта. В контексте настоящего изобретения соевые олигосахариды, в частности, раффиноза, стахиоза и вербаскоза, которые входят в исходную соевую шелуху, не включены в определенные в настоящем документе DP 3-30.

20

25 Пребиотические олигосахариды

Олигосахарид, который следует рассматривать как пребиотик, не должен гидролизироваться или всасываться в верхней части желудочно-кишечного тракта, а должен избирательно усваиваться полезными микроорганизмами в толстой кишке, способствуя благоприятному воздействию на люминальные поверхности и весь организм; Meyer и др. (2015); Míguez и др. (2016). Они могут быть ферментированы микроорганизмами в задней кишке, но должны «выжить», пока не попадут туда; Smiricky-Tjardes и др. (2003).

30

Моносахариды/моносахара

35 Моносахариды, или моносахара, представляют собой простые мономеры сахара, содержащие пять и/или шесть атомов углерода, и являются основными звеньями сахара или углеводов. В контексте настоящего изобретения моносахариды/моносахара представляют собой, в частности, глюкозу, фруктозу и галактозу.

40

Полисахариды

Полисахариды представляют собой полимеры сахара, содержащие большое количество составляющих мономерных сахаров, также известные как сложные углеводы. Полисахариды могут быть растворимыми и нерастворимыми.

5 Пищевые волокна

Пищевые волокна содержат растворимые и нерастворимые некрахмальные полисахариды и могут содержать олигосахариды, лигнин и резистентный крахмал. Исходная биомасса, выбранная в контексте настоящего изобретения, содержит лишь незначительные количества олигосахаридов и резистентного крахмала или по существу не содержит резистентного крахмала.

15 Карбогидраза

Карбогидраза в настоящем контексте представляет собой любой фермент, способный гидролизировать любую углеводную структуру, такой как маннаназы, пектиназы, ксиланазы, глюканазы и целлюлазы.

20 Дрожжи

В настоящем контексте дрожжи могут быть выбраны, в частности, среди штаммов *Saccharomyces cerevisiae*, включая отработанные пивные дрожжи и отработанные дистилляционные дрожжи, а также отработанные дрожжи от производства вина, биоэтанольные дрожжи или отработанные дрожжи от производстве биоэтанола, пекарские дрожжи и штаммы дрожжей, сбраживающие сахара C5.

25 Микроорганизмы

Микроорганизмы представляют собой организмы, которые являются микроскопическими, что делает их слишком маленькими, чтобы их можно было увидеть невооруженным человеческим глазом. В число микроорганизмов входят бактерии, грибы, археи, протисты и вирусы.

30 Молочнокислые бактерии

Обычно встречаются в разлагающихся растениях и молочных продуктах и продуцируют молочную кислоту в качестве основного метаболического конечного продукта биоконверсии углеводов. Молочнокислые бактерии — это микроорганизмы, которые продуцируют органические кислоты, такие как молочная кислота и некоторое количество уксусной кислоты, в качестве продуктов метаболизма биоконверсии углеводов. К этим родам относятся, без ограничения, *Lactobacillus*, *Pediococcus*, *Lactococcus*, *Enterococcus*, *Weisella*, *Streptococcus* и *Leuconostoc*.

40 Другие роды

В контексте настоящего изобретения под другими родами понимают наиболее подходящие другие роды бактерий, имеющие отношение к изобретению. Они

5 включают ряд родов, которые также продуцируют органические кислоты, такие как молочная кислота и уксусная кислота, в качестве продуктов метаболизма биоконверсии углеводов, но часто в меньшей степени, чем молочнокислые бактерии. В контексте настоящего изобретения другие роды, отличные от молочнокислых бактерий, включают, без ограничения, *Bacillus*, *Bifidobacterium*, *Brevibacillus*, *Propionibacterium*, *Clostridium* и *Geobacillus*. Определенные штаммы используются в качестве пробиотиков.

Кормовые продукты

10 Содержат готовый к употреблению корм или кормовые ингредиенты для продуктивных животных, таких как поросята, телята, домашняя птица, пушные звери и овцы.

Пищевые продукты

15 Содержат готовую к употреблению пищу или пищевые ингредиенты для питания людей.

Изобретение проиллюстрировано на чертежах, на которых:

20 На Фиг. 1 показаны результаты первого скрининга после инкубации биомассы соевой шелухи с различными специфичными к углеводам ферментами при регуляции pH. В число измеряемых олигосахаридов DP 3–30 не входят раффиноза, стахиоза и вербаскоза.

25 На Фиг. 2 показана аналогичный скрининг после аналогичной инкубации биомассы соевой шелухи без регуляции pH, но с добавлением пекарских дрожжей. В число измеряемых олигосахаридов DP 3–30 не входят раффиноза, стахиоза и вербаскоза.

На Фиг. 3 показаны результаты тонкослойной хроматографии (ТСХ) инкубации соевой шелухи с различными карбогидразными ферментами.

30 На Фиг. 4 показано влияние времени гидролиза при использовании пектиназы или маннаназы VLAND для инкубации биомассы соевой шелухи. В число измеряемых олигосахаридов DP 3–30 не входят раффиноза, стахиоза и вербаскоза.

35 На Фиг. 5 показано влияние времени гидролиза и дозы фермента при инкубации биомассы соевой шелухи с различными карбогидразными ферментами. В число измеряемых олигосахаридов DP 3–30 не входят раффиноза, стахиоза и вербаскоза.

40 На Фиг. 6 показано для сравнения количественное определение олигосахаридов DP 3–30 (за исключением раффинозы, стахиозы и вербаскозы) в различных биомассах, в исходной биомассе, инкубированной без ферментов биомассе или в обработанных ферментами биомассах после инкубации с карбогидразным ферментом.

На Фиг. 7 показана ТСХ для биомассы соевой шелухи после инкубации с Depol 793L (пектиназой), ксиланазой, маннаназой и целлюлазой производства компании Strowin, соответственно.

5

На Фиг. 8 показано водоудержание в соевой шелухе в сравнении с различными биомассами, либо в необработанном виде, либо после обработки в соответствии с изобретением.

10

На Фиг. 9 показана вязкость в различных биомассах либо в исходном виде, либо после обработки в соответствии с изобретением.

ОСУЩЕСТВЛЕНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Продукт согласно первому аспекту изобретения:

15 В соответствии с первым аспектом изобретение относится к кормовому или пищевому ингредиенту, получаемому из соевой шелухи, причем кормовой или пищевой ингредиент содержит пищевые волокна из соевой шелухи в виде растворимых и нерастворимых полисахаридов, и при этом пищевые волокна из соевой шелухи частично были расщеплены/разложены одной или более карбогидразами, выбранными из маннаназ(ы), пектиназ(ы), ксиланаз(ы), глюканаз(ы) и целлюлаз(ы), на олигосахариды, имеющие от 3 до 30 мономерных сахарных звеньев (олигосахариды DP 20 3–30), причем кормовой или пищевой продукт содержит 5 мас.% или менее моносахаридов.

25 В этом контексте олигосахариды DP 3–30, полученные из пищевых волокон, не содержат раффинозу, стахиозу и вербаскозу.

30 В одном варианте осуществления согласно этому аспекту пищевые волокна из соевой шелухи был частично расщеплены/разложены одной или более карбогидразами на олигосахариды, обеспечивающие пребиотическое действие.

30

В любом варианте осуществления кормовой или пищевой продукт содержит 5 мас.% или менее моносахаридов, например, 4 мас.% или менее, 3 мас.% или менее, 2 мас.% или менее, 1 мас.% или менее, 0,5 мас.% или менее, по существу не содержит моносахаридов или не содержит моносахаридов.

35

В другом варианте осуществления кормовой или пищевой ингредиент может содержать 4 мас.% или более олигосахаридов, имеющих от 3 до 30 мономерных сахарных звеньев (олигосахаридов DP 3–30), например, 5 мас.% или более, 6 мас.% или более, 7 мас.% или более, 8 мас.% или более, 9 мас.% или более, 10 мас.% или более, 40 12 мас.% или более, 15 мас.% или более или 20 мас.% или более олигосахаридов,

имеющих от 3 до 30 мономерных сахарных звеньев (DP 3-30). В этом контексте олигосахариды DP 3–30, полученные из пищевых волокон, не содержат раффинозу, стахиозу и вербаскозу.

- 5 В любом из вариантов осуществления изобретения согласно его первому аспекту кормовой или пищевой ингредиент может иногда дополнительно содержать живые дрожжи, такие как живые дрожжи, выбранные среди штаммов *Saccharomyces cerevisiae*, включая отработанные пивные дрожжи, пекарские дрожжи, отработанные дистилляционные дрожжи и отработанные дрожжи от производства вина,
- 10 биоэтанольные дрожжи или отработанные дрожжи от производстве биоэтанола, и штаммы дрожжей, сбраживающие сахара C5. Например, живые дрожжи могут присутствовать в количестве от 0,05 до 10%, например, 0,10%, 0,15%, 0,20%, 0,25%, 0,5%, 1%, 1,5%, 2%, 2,5%, 3%, 3,5%, 4%, 4,5, 5%, 6%, 7%, 8% или 9%.
- 15 В любом из вариантов осуществления изобретения согласно его первому аспекту олигосахариды раффиноза, стахиоза и/или вербаскоза, присутствующие в исходной соевой шелухе, иногда могут быть полностью или частично расщеплены.
- 20 В любом из вариантов осуществления изобретения согласно его первому аспекту кормовой или пищевой ингредиент может иногда дополнительно содержать один или более микроорганизмов и/или метаболитические продукты разложения углеводов соевой шелухи одним или более микроорганизмами.
- 25 В любом из вариантов осуществления изобретения согласно его первому аспекту кормовой или пищевой ингредиент может иногда дополнительно содержать один или более микроорганизмов, выбранных из молочнокислых бактерий, и/или метаболитические продукты разложения углеводов соевой шелухи молочнокислыми бактериями, такими как *Lactobacillus*, *Pediococcus*, *Lactococcus*, *Enterococcus*, *Weisella*, *Streptococcus* и *Leuconostoc*.
- 30 В любом из вариантов осуществления изобретения согласно его первому аспекту кормовой или пищевой ингредиент может иногда дополнительно содержать один или более микроорганизмов и/или метаболитические продукты разложения углеводов соевой шелухи одним или более микроорганизмами, выбранным из *Bacillus*, *Bifidobacterium*, *Brevibacillus*, *Propionibacterium*, *Clostridium* и *Geobacillus*.
- 35 В любом варианте осуществления изобретения согласно его первому аспекту кормовой или пищевой ингредиент может быть получен из соевой шелухи, причем клетчатка соевой шелухи была расщеплена одной или более β -маннаназами на олигосахариды, содержащие 4 мас.% или более олигосахаридов, имеющих от 3 до 30 мономерных
- 40 сахарных звеньев, например, 5 мас.% или более, 10 мас.% или более, 15 мас.% или более или 20 мас.% или более олигосахаридов, имеющих от 3 до 30 мономерных

сахарных звеньев (DP3-30). В этом контексте олигосахариды DP 3–30, полученные из пищевых волокон, не содержат раффинозу, стахиозу и вербаскозу.

5 В любом варианте осуществления изобретения согласно его первому аспекту кормовой или пищевой ингредиент может быть получен из соевой шелухи, причем клетчатка соевой шелухи была расщеплена одной или более пектиназами на олигосахариды, содержащие 4 мас.% или более олигосахаридов, имеющих от 3 до 30 мономерных сахарных звеньев, например, 5 мас.% или более, 10 мас.% или более, 15 мас.% или более или 20 мас.% или более олигосахаридов, имеющих от 3 до 30 мономерных сахарных звеньев (DP3-30). В этом контексте олигосахариды DP 3–30, полученные из пищевых волокон, не содержат раффинозу, стахиозу и вербаскозу.

15 В любом варианте осуществления изобретения согласно его первому аспекту кормовой или пищевой ингредиент может быть получен из соевой шелухи, причем клетчатка соевой шелухи была расщеплена одной или более ксиланазами на олигосахариды, содержащие 4 мас.% или более олигосахаридов, имеющих от 3 до 30 мономерных сахарных звеньев, например, 5 мас.% или более или 10 мас.% или более олигосахаридов, имеющих от 3 до 30 мономерных сахарных звеньев (DP3-30). В этом контексте олигосахариды DP 3–30, полученные из пищевых волокон, не содержат раффинозу, стахиозу и вербаскозу.

25 В любом варианте осуществления изобретения согласно его первому аспекту кормовой или пищевой ингредиент может быть получен из соевой шелухи, причем клетчатка соевой шелухи была расщеплена одной или более глюканазами на олигосахариды, содержащие 4 мас.% или более олигосахаридов, имеющих от 3 до 30 мономерных сахарных звеньев, например, 5 мас.% или более или 10 мас.% или более олигосахаридов, имеющих от 3 до 30 мономерных сахарных звеньев (DP3-30). В этом контексте олигосахариды DP 3–30, полученные из пищевых волокон, не содержат раффинозу, стахиозу и вербаскозу.

30 В любом варианте осуществления изобретения согласно его первому аспекту кормовой или пищевой ингредиент может быть получен из соевой шелухи, причем клетчатка соевой шелухи была расщеплена несколькими из карбогидраз на олигосахариды, имеющие от 3 до 30 мономерных сахарных звеньев (DP3-30).

35 Способ согласно второму аспекту изобретения:

В соответствии со вторым аспектом изобретения оно относится к способу получения кормового или продуктового ингредиента согласно изобретению, включающему следующие этапы:

- 40
- смешивание соевой шелухи с одной или более карбогидразами, выбранными из маннаназ(ы), пектиназ(ы), ксиланаз(ы), глюканаз(ы) или целлюлаз(ы);

- гидролиз смеси в условиях, когда содержание сухого вещества (СВ) составляет 55 мас.% или менее, в течение периода времени от 1 до 48 часов при температуре от 20 до 60 °С;
 - необязательно, полная инактивация действия одной или более карбогидраз;
- 5
- изоляция кормового или пищевого ингредиента.

Специалист сможет выбрать подходящее количество карбогидразных ферментов, которое удовлетворяет требованиям способа, в зависимости от условий процесса, предполагаемого результата и оптимальной экономичности процесса.

10

В одном варианте осуществления согласно этому аспекту богатая клетчаткой растительная биомасса может быть измельчена перед смешиванием с одной или более карбогидразами. Средства измельчения могут быть физическими или химическими, и специалист будет знать, является ли измельчение достаточным или необходимым, и какие средства применимы для конкретной биомассы.

15

В любом варианте осуществления изобретения согласно его второму аспекту способ включает этап полного инактивирования действия одной или более карбогидраз, выполняемый после этапа гидролиза смеси. Этап инактивации гарантирует, что олигосахариды DP 3–30 не расщепляются на моносахариды.

20

В любом варианте осуществления изобретения согласно его второму аспекту содержание сухого вещества составляет 55 мас.% или менее, например, 53 мас.% или менее, 51 мас.% или менее, 50 мас.% или менее, 48 мас.% или менее, 46 мас.% или менее или 45 мас.% или менее.

25

В любом варианте осуществления изобретения согласно его второму аспекту время реакции составляет от 1 до 48 часов, например, 2, 4, 6, 8, 12, 16, 20, 24, 28, 32, 36, 40 или 44 часа.

30

В любом варианте осуществления изобретения согласно его второму аспекту температура реакции составляет от 20 до 60 °С, например, 25, 30, 32, 35, 37, 40, 45, 50, 55 или 58 °С.

35

В любом варианте осуществления изобретения согласно его второму аспекту специалист будет в состоянии выбрать и адаптировать время реакции и температуру реакции с учетом выбранных карбогидраз и пропорционально их количеству.

40

В любом варианте осуществления изобретения согласно его второму аспекту перед этапом гидролиза в смесь соевой шелухи и карбогидраз(ы) могут быть добавлены дрожжи, такие как живые дрожжи, выбранные среди штаммов *Saccharomyces*

5 *cerevisiae*, включая отработанные пивные дрожжи, пекарские дрожжи, отработанные дистилляционные дрожжи и отработанные дрожжи от производства вина, биоэтанольные дрожжи или отработанные дрожжи от производстве биоэтанола, и штаммы дрожжей, сбраживающие сахара С5, например, в количестве от 0,05 до 10%,
 5
 7%, 8% или 9%. Специалист сможет выбрать подходящее количество в зависимости от условий процесса и предполагаемого результата.

10 В любом варианте осуществления изобретения согласно его второму аспекту перед этапом гидролиза в смесь соевой шелухи и карбогидраз(ы) могут быть добавлены один или более микроорганизмов. Добавление микроорганизмов подходит для преобразования углеводов, присутствующих в соевой шелухе, в полезные продукты метаболизма, в частности, органические кислоты, такие как молочная кислота и уксусная кислота. Специалист сможет выбрать подходящее количество в зависимости от условий процесса и предполагаемого результата.
 15

20 В любом варианте осуществления изобретения согласно его второму аспекту перед этапом гидролиза в смесь соевой шелухи и карбогидраз(ы) могут быть добавлены молочнокислые бактерии, такие как *Lactobacillus*, *Pediococcus*, *Lactococcus*,
 20 *Enterococcus*, *Weisella*, *Streptococcus* и *Leuconostoc*. Добавление молочнокислых бактерий подходит для превращения углеводов, присутствующих в растительной биомассе, в полезные продукты метаболизма, в частности, органические кислоты, такие как молочная кислота и уксусная кислота. Специалист сможет выбрать подходящее количество в зависимости от условий процесса и предполагаемого
 25 результата.

30 В любом варианте осуществления изобретения согласно его второму аспекту перед этапом гидролиза в смесь соевой шелухи и карбогидраз(ы) могут быть добавлены один или более микроорганизмов, выбранных из *Bacillus*, *Bifidobacterium*, *Brevibacillus*,
 30 *Propionibacterium*, *Clostridium* и *Geobacillus*. Специалист сможет выбрать подходящее количество в зависимости от условий процесса и предполагаемого результата.

35 В любом варианте осуществления изобретения согласно его второму аспекту перед этапом гидролиза в смесь соевой шелухи и карбогидраз(ы) может быть добавлена α -галактозидаза. Добавление α -галактозидазы подходит для расщепления раффинозы, стахиозы и вербаскозы, присутствующих в соевой шелухе. Специалист сможет выбрать подходящее количество в зависимости от условий процесса и предполагаемого
 40 результата.

40 Кормовой или пищевой продукт или пищевая добавка согласно третьему аспекту изобретения:

Согласно третьему аспекту изобретения оно относится к кормовому или пищевому продукту или пищевой добавке, содержащей от 0,5 до 99 мас.% кормового или пищевого ингредиента в соответствии с изобретением.

5 В любом варианте осуществления изобретения согласно его третьему аспекту кормовой продукт или пищевая добавка могут быть применены в рационе для продуктивных животных, таком как рацион для улучшения продуктивности продуктивных животных, в частности, новорожденных и молодых животных, таких как поросята, телята и домашняя птица.

10

В любом варианте осуществления изобретения согласно его третьему аспекту кормовой продукт или пищевая добавка могут быть применены в рационе для продуктивных животных, в частности, новорожденных и молодых животных, таких как поросята, телята и цыплята, нуждающихся в пребиотических олигосахаридах.

15

Согласно 4-му аспекту изобретения оно относится к применению кормового ингредиента в соответствии с изобретением в рационе для продуктивных животных, в частности, новорожденных и молодых животных, таких как поросята, телята и цыплята.

ПРИМЕРЫ

20 **Материалы и способы**

Ферменты и поставщики ферментов:

BIO-CAT, Vland Biotech Inc., Strowin, Jinan BestZyme, Winovazyme, Habio, Challenge Group, Biocatalysts Ltd. и DSM. Ферменты поставлялись в период с апреля 2018 г. до декабря 2019 г., и конкретные наименования ферментов приведены в таблице ниже.

25

	Пектиназа а	Ксиланаза	Маннаназа а	β- глюканаза	Целлюлоза за	Смесь
BioCat	Пектиназа эндо 3,5К	Ксиланаза а 150К		β-глюканаза 6К	Целлюлоза AN 100К Целлюлоза 150К	Геми- целлюлоза 400К
Vland	Пектиназа 300К	Ксиланаза а 200К	Нейтральная маннаназа 3К	β-глюканаза 50К	Нейтральная целлюлоза 30К	
Strowin	Пектиназа 30К	Ксиланаза а 200К	β-маннаназа (нормальная) 50К	β-глюканаза 50К	Целлюлоза 10К	
Jinan	Пектиназа 30К	Ксиланаза а 600К	β-маннаназа 100К	β-глюканаза 100К	Целлюлоза 20К	
Winovazyme		Ксиланаза а 200К	β-маннаназа CM 100К	β-глюканаза 50К	Целлюлоза 8К	

DSM	Ронозим VP	Ронозим WX				
Habio	Пектиназа 30К		β -маннаназа 100К	β -глюканаза 50К	Целлюлаза 20К	
Challenge		Ксиланаз а 50К	β -маннаназа 50К	β -глюканаза 50К	Целлюлаза 20К	
Biocatalysts	Пектиназа 62L	Depol 761P			Целлюлаза 13L	Depol 793L Depol 670L

Тонкослойная хроматография (метод ТСХ)

5 Сначала получали суспензию образца, содержащую 10% сухого вещества, затем гомогенизировали в течение 30 секунд с использованием аппарата Ultra Thorax на уровне 2. Образец перемешивали при комнатной температуре в течение 30 минут и центрифугировали при ускорении 3000 g в течение 10 минут. Супернатант использовали непосредственно для ТСХ.

10 На пластину для ТСХ добавляли 1,4 мкл образцов и различные стандартные смеси. После сушки пластину помещали в хроматографическую камеру на 50–60 минут с последующей сушкой и погружением в жидкий проявитель на 2 секунды. После сушки при температуре 150 °С через короткое время становились видны профили ТСХ. Жидкость для хроматографии состояла из деминерализованной воды с 46% об/об н-бутанола и 31% об/об пиридина. Проявляющий раствор состоял из 2 г дифениламина, 15 84 мл ацетона, 2 мл анилина и 15 мл 85%-й фосфорной кислоты на 100 мл.

Ионообменный хроматографический анализ (Dionex)

20 Получали суспензию образца, содержащую 10% сухого вещества и гомогенизировали в течение 30 секунд с использованием аппарата Ultra Turrax T25 (производства компании IKA) на уровне 2. Образец перемешивали при комнатной температуре в течение 30 минут и центрифугировали при ускорении 3000 g в течение 10 минут. Супернатант использовали для анализа с использованием системы Dionex или Viscotek.

25 Олигосахариды и сахара разделяли и количественно оценивали с помощью высокоэффективной анионообменной хроматографии с импульсным амперометрическим детектированием (HPLC-PAD, Dionex). Олигосахариды оценивали с использованием внешнего мальтодекстринового стандарта. Образцы вводили в колонку CarboPacPA-200 с использованием скорости потока 0,4 мл·мин⁻¹, 150 мМ изократического NaOH и следующего профиля градиента NaOAc: 0–5 мин: 0–110 мМ линейный градиент, 5–30 мин: 110–350 мМ выпуклый градиент.

Хроматографический анализ с исключением размера (Viscotek)

Образцы исследовали методом хроматографии с исключением размера (SEC) с использованием системы Viscotek (Malvern, UK), оборудованной двумя последовательными колонками: колонки GS-320 HQ и GS-620 HQ (Shodex) присоединенных к модулю TDA 302 (тройная детекторная матрица), содержащему рефрактометрический (RI) детектор, четырехмостиковый вискозиметрический детектор (VIS) и детектор по светорассеянию (LS). Светорассеяние включало прямоугольное светорассеяние (RALS) и малоугловое светорассеяние (LALS), что позволяет измерять рассеянный свет под углом 7° и 90° к падающему лучу. Прибор калибровали с использованием пуллулана (50 кДа, полидисперсность 1,07, Showa Denko), солюбилизованного в воде MilliQ (1 мг/мл) при температуре 99 °С в течение 120 мин при 1000 об/мин. Элюирование проводили с использованием 50 мМ буфера из формиата аммония (HCO_2NH_4) при скорости потока 0,5 мл·мин⁻¹. Образцы фильтровали через центрифужный фильтр 0,22 мкм, и 50 мкл образца вводили (модуль GPCStax) в колонку и разделяли при температуре 60 °С. В качестве внешнего стандарта использовали аутентичные хорошо изученные линейные мальтоолигосахариды. Данные анализировали с использованием программного обеспечения OmniSec версии 4.7 (Malvern Instrument, Ltd.).

Пример 1.

Мелкомасштабный скрининг, показывающий влияние карбогидраз в соевой шелухе
На биомассе соевой шелухи в общей сложности были испытаны 40 имеющихся в продаже карбогидразных ферментов от разных поставщиков, охватывающих по меньшей мере общие группы маннаназ, ксиланаз, целлюлаз, β-глюканаз и пектиназ. Ферменты дозировали согласно цене фермента, добавляя дозу, соответствующую фиксированной цене в расчете на вес сухого вещества соевой шелухи, и сравнивали соответствующим образом. Соевую шелуху доставляли в виде сухих брикетов и грубо измельчали в измельчителе. Ферменты и соевую шелуху смешивали и инкубировали при содержании сухого вещества (DM) 45–48 мас.% и температуре 32 °С в течение 8–44 часов. В этом мелкомасштабном скрининге использовали приблизительно 90 г соевой шелухи. Чтобы удалить олигосахариды стахиозу и раффинозу в биомассе соевой шелухи, ко всем образцам добавляли α-галактозидазу. В некоторых экспериментах в реакционную смесь добавляли пекарские дрожжи. В некоторых экспериментах pH регулировали до 4,5 с помощью H_2SO_4 .

После гидролиза биомассы определяли ее содержание олигосахаридов DP 3-30 (олигосахаридов, имеющих 3–30 сахарных звеньев) с использованием либо способа компании Dionex, либо способа компании Viscotek. Также применяли метод ТСХ для дальнейшего количественного определения характера ферментативного расщепления олигосахаридов различными ферментами.

40

На Фиг. 1 А, В и С показаны результаты первого скрининга после инкубации в течение 21 часа с регуляцией рН и анализа продукта способом компании Dionex.

5 На Фиг. 2 показаны результаты скрининга после инкубаций в течение 8–44 часов без регуляции рН и анализа продукта способом Dionex и Viscotek. Если с одним и тем же ферментом проводился дополнительный анализ, на фигуре использовали средние значения.

10 На Фиг. 3 показаны составы сахаров соевой шелухи, подвергнутой обработке различными карбогидразными ферментами, ясно показывающие, что различные типы ферментов по-разному расщепляют в соевой шелухе, что приводит к типичным картинкам для маннаназы, ксиланазы, пектиназы и β -глюканазы/целлюлазы, соответственно. Эталонные сахарные смеси, представленные на полосах 1–4, содержат следующее, начиная сверху:

15 Смесь 1: ксилоза, сахароза, раффиноза, стахиоза

Смесь А: арабинобиоза, арабиноза, маннобиоза, маннотриоза

Смесь В: ксилоза, ксилобиоза, ксилотриоза, маннобиоза, маннотриоза

Смесь С: галактоза, галактуроновая кислота

20 Средние максимальные уровни олигосахаридов, полученные при мелкомасштабном скрининге с различными группами ферментов после 16 часов гидролиза, показаны ниже как среднее значение анализа для лучшего фермента:

	Олигосахариды DP 3–30, мас. % сухого вещества
Контроль	1
В-маннаназа	11
Пектиназа	9
Ксиланаза	8
Глюканаза/целлюлаза	5

25 **Пример 2**

Демонстрация влияния карбогидраз в соевой шелухе в экспериментальном масштабе

30 Провели три эксперимента по гидролизу в горизонтальном медленно вращающемся реакторе, используя 450 кг соевой шелухи на каждый пилотный эксперимент и наиболее эффективно работающие ферменты из примера скрининга, а также пекарские дрожжи и α -галактозидазу. Брикет соевой шелухи предварительно не измельчали, начальное содержание сухих веществ и температура составляли 48 мас.% и 30 °С, а инкубация длилась 16 часов.

Проводили анализ Viscotek. Содержание олигосахарида DP 3–30 (олигосахаридов, имеющих 3–30 сахарных звеньев) повторно вычисляли в % от массы общей биомассы соевой шелухи.

		Олигосахариды DP 3–30, мас. % сухого вещества
Лучший фермент	пектиназный	15,8
Лучший манназный фермент		22,8
Лучший фермент	ксиланазный	17,0

5

Пример 3

Демонстрация влияния времени инкубации и дозы фермента

Влияние времени инкубации исследовали в условиях гидролиза при pH = 4,5 (Фиг. 4) или без регуляции pH (Фиг. 5), как описано в примере 1. На Фиг. 5 также показано влияние включения половинной дозы фермента. Как и следовало ожидать, эксперименты показывают, что влияние времени инкубации зависит от фермента.

10

Пример 4

Демонстрация уровней олигосахаридов и влияния карбогидраз в других биомассах по сравнению с соевой шелухой

15

Уровень олигосахаридов проверяли в ряде различных биомасс в различных формах:

- a) исходная биомасса (контроль);
- b) инкубированная биомасса без добавления карбогидразных ферментов (к биомассам, содержащим раффинозу, стахиозу и вербаскозу, добавляли α -галактозидазу, чтобы удалить эти олигосахариды); или
- c) биомасса, инкубированная с имеющимися в продаже карбогидразными ферментами.

20

Ферменты дозировали согласно их цене, добавляя дозу, соответствующую фиксированной цене в расчете на массу сухого вещества биомассы, и соответственно сравнивали. Биомассу жома сахарной свеклы и соевой шелухи доставляли в виде сухих брикетов и грубо измельчали в измельчителе. Другие биомассы использовали в том виде, в каком их доставляли. Ферменты, пекарские дрожжи и биомассу смешивали и инкубировали при содержании сухого вещества 45 или 48 мас.% и температуре 32 или 37 °C в течение 16, 20 или 44 часов. После гидролиза биомассу анализировали таким же образом, как описано в примере 1. Результаты показаны на Фиг. 6. Из исходной биомассы вычитали соевые олигосахариды (раффинозу, стахиозу и вербаскозу) в случае их наличия в исходной биомассе.

25

30

На Фиг. 6 показано количественное определение с использованием способа Dionex или Viscotek олигосахаридов в различных биомассах: исходной биомассе, инкубированной биомассе без ферментов или биомассе, обработанной ферментами.

- 5 При сравнении относительного высвобождения олигосахаридов (по сравнению с начальным уровнем в исходном материале) соевая шелуха выделяется на фоне других как биомасса, в которой возможно высвобождение самого высокого относительного количества.

	Коэффициент увеличения содержания олигосахаридов DP 3–30 по сравнению с исходным материалом (без учета соевых олигосахаридов)
Жом сахарной свеклы	0,9
Пшеничные отруби	1,2
Соевая шелуха	7,2

10

Пример 5

Демонстрация влияния содержания сухих веществ при инкубации в соевой шелухе

Для тестирования трех разных уровней содержания сухого вещества в исходной биомассе — 45, 48 и 51% сухого вещества — проводили эксперимент, как описано в примере 1 с нерегулируемым pH. Результаты приведены на Фиг. 7, показывающей ТСХ, которая указывает на отсутствие влияния % сухого вещества в диапазоне от 45% до 51% при использовании Depol 793L (пектиназа), ксиланазы, маннаназы и целлюлаз производства компании Strowin.

15

20 Пример 6

В мае-августе 2018 г. на испытательной станции в Дании (Skjoldborg teststation, TestGris, SvineRådgivningen, Herning, Denmark) проводилось испытание по кормлению поросят. С использованием обычной системы свиноводства проводили испытание четырех рационов, включая следующие:

25

1. Контроль без соевой шелухи.
2. FaserGold, экструдированная соевая шелуха с содержанием сухих веществ 2,5 мас. %.
3. Соевая шелуха, инкубированная с α -галактозидазой и пекарскими дрожжами в течение 8 часов, измельченная и высушенная, с содержанием сухих веществ 2 мас. %.
4. Соевая шелуха, инкубированная с α -галактозидазой, Ронозимом VP и пекарскими дрожжами в течение 7 часов, измельченная и высушенная, с содержанием сухих веществ 2 мас. %.

30

Испытание проводили в течение 6 недель после отлучения от матки в три отдельные фазы (А, В и С), по 2 недели каждая. Продукты соевой шелухи включали только в течение фазы А. На фазах В и С поросят кормили одинаковым кормом. Ни один из рационов не содержал антибиотиков или терапевтических уровней ветеринарного ZnO.

5 Все рационы скармливали *ad libitum* (без ограничения). Поросята имели постоянный доступ к свежей воде. Рационы на фазе А были на основе пшеницы (35–38%) и ячменя (15%) с использованием HP300 от компании Hamlet Protein (19%) в качестве источника белка. В каждом рационе использовали равное количество «премикса» (25%), а для выравнивания уровня энергии в рационах использовали соевое масло (2,7–3,7%).

10 Пшеницу и ячмень измельчали, а рацион гранулировали. Рационы фаз В и С производились компанией TestGris в соответствии с кормовыми нормами Дании.

Использовали 4111 кроссбредных поросят от компании Danbred в возрасте отъема 25 ± 3 дня и средней массой тела 6,4 кг. Использовали 64 двойных загона. В каждом

15 двойном загоне использовали приблизительно 2×32 поросят. Двойные загоны распределяли по одной из 4 диет.

Результаты измеряли как среднесуточный привес (ADG), потребление корма (FI) и использование корма (FU) (также известное как коэффициент конверсии корма (FCR)).

20 Результаты показаны в таблице 1.

Таблица 1. Среднесуточный привес (ADG, г), потребление корма (FI) и использование корма (FU) на фазе А (6–9 кг), фазе В (9–15 кг), фазе С (15–30 кг) и в течение всего периода испытаний (А–С) на поросятах, которых кормили четырьмя

25 экспериментальными рационами^х

	Фаза	Рацион 1	Рацион 2	Рацион 3	Рацион 4	р-значение
ADG, г/д	A	196	200	198	210	0,08
	B	533	531	540	526	0,71
	C	794	792	807	785	0,70
	A–C	497	495	507	499	0,47
FI, г/д	A	241	242	239	246	0,66
	B	692	695	695	691	0,98
	C	1227	1187	1224	1220	0,17
	A–C	710	696	709	709	0,45
FU, кг корма/кг привеса	A	1,25 ^b	1,23 ^{ab}	1,20 ^{ab}	1,18 ^a	0,005
	B	1,31	1,30	1,29	1,32	0,14
	C	1,56	1,55	1,52	1,57	0,62
	A–C	1,42	1,41	1,40	1,42	0,43

^х Значения представляю собой средние значения по методу наименьших квадратов ($n = 16$).

^{ab} В строках средние значения по методу наименьших квадратов без общего верхнего индекса различаются ($p < 0,05$).

30

В целом, поросята сохранили хорошее здоровье во время эксперимента.

Сделан вывод, что диетическое лечение на фазе А, как правило, значительно влияет на ADG, причем наибольший ADG достигнут в группе с рационом 4. На FI диетическое лечение не влияло, но FU было значительно выше в группе с рационом 4 по сравнению с группой, использующей рацион 1. Различные рационы, которыми кормили на фазе А, не повлияли на продуктивность на фазе В или С.

Пример 7

В продуктах из клетчатки важное значение имеют водоудерживающая способность (WHC), а также вязкость. Относительно высокая водоудерживающая способность в продуктах из клетчатки гарантирует безопасное кормление животных и помогает обеспечить оптимальную консистенцию стула. Вязкость клетчатки часто является тем аспектом, который вызывает беспокойство, особенно при кормлении домашней птицы, где высокая вязкость нежелательна, поскольку она может замедлить усвоение питательных веществ и создать больше возможностей для размножения патогенных микроорганизмов в кишечнике. Водоудерживающую способность измеряют как количество воды, которое может удерживаться биомассой под действием силы тяжести без выделения свободной воды, а единицей измерения является кг воды на кг биомассы.

Водоудерживающая способность (WHC)

WHC измеряли в ряде сухих продуктов из клетчатки, включая исходную соевую шелуху и готовый ингредиент из клетчатки согласно настоящему изобретению, а именно, обработанную пектиназой соевую шелуху, а также ячмень, пшеницу, кукурузу и муку из соевых бобов (SBM). Все образцы сначала измельчали и просеивали через сито с размером ячейки 500 мкм. Результаты приведены на Фиг. 8 и показывают, что продукт согласно изобретению имеет вполне высокую WHC, что также характерно для многих других продуктов из клетчатки.

Вязкость

Вязкость измеряли следующим способом: все образцы измельчали и просеивали через сито с размером ячейки 500 мкм. 1 г образца и 20 мл 0,05 М фосфатного буфера (pH 7) инкубировали при температуре 40 С° в течение 0,5 ч. После этого образцы центрифугировали при 500 об/мин (31 g) в течение 10 мин в центрифуге Allegar X-22R от компании Beckman Coulter, прежде чем анализировать реологию. Образцы анализировали в реометре Discovery HR-3 (TA Instruments). Готовый ингредиент из клетчатки согласно настоящему изобретению, а именно, обработанную пектиназой соевую шелуху, сравнивали с исходной соевой шелухой, жомом сахарной свеклы, пшеничными отрубями и Easy Fibre (смесь рапсовой соломы и пшеничной соломы). Результаты приведены на Фиг. 9 и показывают, что по сравнению с исходной соевой шелухой, пшеничными отрубями, жомом сахарной свеклы и Easy Fibre продукт

согласно изобретению имеет пониженную вязкость. Подходящие скорости сдвига в кишечнике составляют приблизительно от 1 до 10 с⁻¹, как указано на фигуре.

ССЫЛОЧНЫЕ МАТЕРИАЛЫ

- Aachary & Prapulla (2011). Xylooligosaccharides (XOS) as an Emerging Prebiotic: Microbial Synthesis, Utilization, Structural Characterization, Bioactive Properties, and Applications. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* Vol. 10, 2011
- 5
- Babber et al 2015. Pectic oligosaccharides from agricultural by-products: production, characterization and health benefits. *Crit Rev Biotechnol*: 1–13
- Dotsenko et al (2017). Enzymatic production of wheat and ryegrass derived xylooligosaccharides and evaluation of their in vitro effect on pig gut microbiota. *Biomass Conversion and Biorefinery*
- 10
- Chung et al (2017). Prebiotic potential of pectin and pectic oligosaccharides to promote anti-inflammatory commensal bacteria in the human colon. *FEMS Microbiology Ecology*, 93
- 15
- Corrigan et al (2015). Phylogenetic and Functional Alterations in Bacterial Community Compositions in Broiler Ceca as a Result of Mannan Oligosaccharide Supplementation. *Applied and Environmental Microbiology* May 2015 Volume 81 Number 10
- 20
- Englyst HN, Quigley ME and Hudson GJ (1994) *Analyst*, 119, 1497-1509
- Gaggia et al (2010). Probiotics and prebiotics in animal feeding for safe food production. *International Journal of Food Microbiology* 141 pp15-28
- 25
- Ghoddusi et al (2007). In vitro study on gas generation and prebiotic effects of some carbohydrates and their mixtures. *Anaerobe* 13 pp 193-199
- Kiarie et al (2013). The role of added feed enzymes in promoting gut health in swine and poultry. *Nutrition Research Reviews* 26, 71–88
- 30
- Kim et al (2011). Effect of dietary prebiotic supplementation on the performance, intestinal microflora, and immune response of broilers. *Poultry Science* 90 :75–82
- Kim et al (2019). Potential for Prebiotics as Feed Additives to Limit Foodborne *Campylobacter* Establishment in the Poultry Gastrointestinal Tract. *Frontiers in Microbiology*. Volume 10, Article 91
- 35
- Kurakake et al (2006). Production of Galacto-manno-oligosaccharides from Guar Gum by β -Mannanase from *Penicillium oxalicum* SO. *J. Agric. Food Chem.* 54, 7885-7889
- 40

- Liu et al (2018). Effect of probiotics and xylo-oligosaccharide supplementation on nutrient digestibility, intestinal health and noxious gas emission in weanling pigs. *Asian-Australas J Anim Sci* Vol. 31, No. 10 pp 1660-1669
- 5 Markowiak & Slizewska (2018). The role of probiotics, prebiotics and synbiotics in animal nutrition. *Gut Pathog* 10:21
- Maribo (2005). Tilsætningsstoffer til svin. Landsudvalget for svin.
- 10 Meyer et al (2015). Biotechnological production of oligosaccharides – application in the food industry. Chapter 2 in: Food production and industry <https://www.intechopen.com/books/food-production-and-industry>
- 15 Míguez et al (2016). Pectic oligosaccharides and other emerging prebiotics. Chapter 15 in: Probiotics and prebiotics in human nutrition and health <https://www.intechopen.com/books/probiotics-and-prebiotics-in-human-nutrition-and-health>
- 20 Molist et al (2009) Effects of the insoluble and soluble dietary fibre on the physicochemical properties of digesta and the microbial activity in early weaned piglets. *Animal Feed Science and Technology* 149 pp 346–353
- Moura et al (2018). In vitro fermentation of selected xylo-oligosaccharides by piglet intestinal microbiota. *Food Science and Technology* 41 pp 1952-1961
- 25 Nielsen et al (2014). Diets high in resistant starch and arabinoxylan modulate digestion processes and SCFA pool size in the large intestine and faecal microbial composition in pigs. *British Journal of Nutrition* 112, 1837–1849
- 30 Roberfroid et al (2010). Prebiotic effect: metabolic and health effects [https://www.cambridge.org/core/services/aop-cambridge-core/content/view/F644C98393E2B3EB64A562854115D368/S0007114510003363a.pdf/prebiotic effects metabolic and health benefits.pdf](https://www.cambridge.org/core/services/aop-cambridge-core/content/view/F644C98393E2B3EB64A562854115D368/S0007114510003363a.pdf/prebiotic%20effects%20metabolic%20and%20health%20benefits.pdf)
- 35 Pourabeden & Zhao (2015). MINIREVIEW – Environmental Microbiology. Prebiotics and gut microbiota in chickens *FEMS Microbiology Letters*, 362
- 40 Probert et al (2004). Polydextrose, Lactitol, and Fructo-Oligosaccharide Fermentation by Colonic Bacteria in a Three-Stage Continuous Culture System. *Applied and Environmental Microbiology* vol 70 no 8 pp 4505-45

Scapini et al (2018). Nutritional Evaluation of Soybean Hulls with or without β -Mannanase Supplement on Performance, Intestinal Morphometric and Carcass Yield of Broilers Chickens. Brazilian Journal of Poultry Science

- 5 Smiricky-Tjardes et al (2003). In vitro fermentation characteristics of selected oligosaccharides by swine fecal microflora. J. Anim. Sci. 2003. 81:2505–2514

10 Strube et al (2015). *In Situ* Prebiotics for Weaning Piglets: *In Vitro* Production and Fermentation of Potato Galacto-Rhamnogalacturonan. Applied and Environmental Microbiology vol 81 no 5 pp 1668-78

Torres et al (2010). Galacto-oligosaccharides. Production, properties, applications and significance as prebiotics. Comprehensive reviews in food science and food safety. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1111/j.1541-4337.2010.00119.x>

15

Zivkovic et al 2011. PREBIOTICS IN NUTRITION OF SOWS AND PIGLETS. Biotechnology in Animal Husbandry 27 (3), p 547-559

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Кормовой или пищевой ингредиент, получаемый из соевой шелухи, содержащий кормовые волокна из соевой шелухи в виде растворимых и нерастворимых полисахаридов, и при этом пищевые волокна из соевой шелухи являются частично расщепленными одной или более карбогидразами, выбранными из манназаз(ы), пектиназаз(ы), ксиланазаз(ы), глюканазаз(ы) и целлюлазаз(ы), на олигосахариды, имеющие от 3 до 30 мономерных сахарных звеньев (олигосахариды DP 3–30), причем кормовой или пищевой продукт содержит 5 мас.% или менее моносахаридов.
2. Ингредиент по п. 1, в котором пищевые волокна из соевой шелухи являются частично расщепленными одной или более карбогидразами на олигосахариды (олигосахариды DP 3–30), обеспечивающие пребиотическое действие.
3. Ингредиент по любому из предыдущих пунктов, содержащий 4 мас.% или более олигосахаридов, имеющих от 3 до 30 мономерных сахарных звеньев (олигосахаридов DP 3–30), в частности, 5 мас.% или более, 6 мас.% или более, 7 мас.% или более, 8 мас.% или более, 9 мас.% или более, 10 мас.% или более, 12 мас.% или более, 15 мас.% или более или 20 мас.% или более олигосахаридов, имеющих от 3 до 30 мономерных сахарных звеньев (DP 3-30).
4. Ингредиент по любому из предыдущих пунктов, который содержит 4 мас.% или менее моносахаридов, в частности, 3 мас.% или менее, 2 мас.% или менее, 1 мас.% или менее, 0,5 мас.% или менее моносахаридов.
5. Ингредиент по любому из предыдущих пунктов, дополнительно содержащий дрожжи, в частности, дрожжи, выбранные среди штаммов *Saccharomyces cerevisiae*, включая отработанные пивные дрожжи и отработанные дистилляционные дрожжи, а также отработанные дрожжи от производства вина, биоэтанольные дрожжи или отработанные дрожжи от производстве биоэтанола, пекарские дрожжи и штаммы дрожжей, сбраживающие сахара C5.
6. Ингредиент по любому из предыдущих пунктов, в котором олигосахариды раффиноза, стахиоза и вербаскоза, присутствующие в соевой шелухе, являются полностью или частично расщепленными.
7. Ингредиент по любому из предыдущих пунктов, дополнительно содержащий один или более микроорганизмов и/или метаболитических продуктов разложения углеводов соевой шелухи одним или более микроорганизмами.

8. Ингредиент по п. 7, дополнительно содержащий молочнокислые бактерии и/или метаболитические продукты разложения углеводов соевой шелухи молочнокислыми бактериями.

- 5 9. Способ получения кормового или пищевого ингредиента по любому из предыдущих пунктов, включающий следующие этапы:
- смешивание соевой шелухи с одной или более карбогидразами, выбранными из манназаз(ы), пектиназаз(ы), ксиланазаз(ы), глюканазаз(ы) или целлюлазаз(ы);
 - гидролиз смеси в условиях, при которых содержание сухого вещества составляет 55 мас.% или менее, в течение периода времени от 1 до 48 часов при температуре от 20 до 60 °С;
 - необязательно, полная инактивация действия одной или более карбогидраз;
 - изоляция кормового или пищевого ингредиента.
- 10 10. Способ по п. 9, в котором соевую шелуху измельчают перед смешиванием с одной или более карбогидразами.
- 15 11. Способ по любому из пп. 9 или 10, дополнительно включающий добавление дрожжей, таких как дрожжи, выбранные среди штаммов *Saccharomyces cerevisiae*, включая отработанные пивные дрожжи и отработанные дистилляционные дрожжи, а также отработанные дрожжи от производства вина, биоэтанольные дрожжи или отработанные дрожжи от производстве биоэтанола, пекарские дрожжи и штаммы дрожжей, сбраживающие сахара C5, в смесь соевой шелухи и карбогидраз(ы) перед этапом гидролиза.
- 20 12. Способ по любому из пп. 9–11, который дополнительно включает добавление одного или более микроорганизмов в смесь соевой шелухи и карбогидраз(ы) перед этапом гидролиза.
- 25 13. Способ по любому из пп. 9–12, который дополнительно включает добавление молочнокислых бактерий в смесь соевой шелухи и карбогидраз(ы) перед этапом гидролиза.
- 30 14. Способ по любому из пп. 9–13, который дополнительно включает добавление α -галактозидазы в смесь соевой шелухи и карбогидраз(ы) перед этапом гидролиза.
- 35 15. Кормовой или пищевой продукт или пищевая добавка, содержащая от 0,5 до 99 мас.% кормового или пищевого ингредиента по любому из пп. 1–8.

16. Кормовой продукт или пищевая добавка по п. 15, предназначенная для применения в рационе для продуктивных животных, в частности в качестве рациона для улучшения продуктивности.
- 5 17. Кормовой продукт по любому из пп. 15–16, предназначенный для применения в рационе для продуктивных животных, предпочтительно новорожденных и молодых животных, в частности, поросят, телят и цыплят, нуждающихся в пребиотических олигосахаридах.
- 10 18. Применение кормового ингредиента по любому из пп. 1–8 в рационе для продуктивных животных, предпочтительно новорожденных и молодых животных, в частности, поросят, телят и цыплят.

**ИЗМЕНЕННАЯ ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ,
ПРЕДЛОЖЕННАЯ ЗАЯВИТЕЛЕМ ДЛЯ РАССМОТРЕНИЯ**

1. Кормовой или пищевой ингредиент, получаемый из соевой шелухи, содержащий кормовые волокна из соевой шелухи в виде растворимых и нерастворимых полисахаридов, и при этом часть пищевых волокон из соевой шелухи является расщепленной одной или более карбогидразами, выбранными из манназаз(ы), пектиназаз(ы), ксиланазаз(ы), глюканазаз(ы) и целлюлазаз(ы), на олигосахариды, имеющие от 3 до 30 мономерных сахарных звеньев (олигосахариды DP 3–30), для обеспечения кормового или пищевого ингредиента, содержащего 4 мас.% или более указанных олигосахаридов DP 3–30, рассчитанных без включения соевых олигосахаридов раффинозы, стахиозы и вербаскозы, причем кормовой или пищевой ингредиент дополнительно содержит дрожжи, и причем соблюдено условие, что кормовой или пищевой ингредиент не содержит более 5 мас.% моносахаридов.
2. Ингредиент по п. 1, в котором часть пищевых волокон из соевой шелухи является расщепленной одной или более карбогидразами на олигосахариды (олигосахариды DP 3–30), обеспечивающие пребиотическое действие.
3. Ингредиент по любому из предыдущих пунктов, содержащий 5 мас.% или более указанных олигосахаридов, имеющих от 3 до 30 мономерных сахарных звеньев (олигосахаридов DP 3–30), в частности, 6 мас.% или более, 7 мас.% или более, 8 мас.% или более, 9 мас.% или более, 10 мас.% или более, 12 мас.% или более, 15 мас.% или более или 20 мас.% или более олигосахаридов, имеющих от 3 до 30 мономерных сахарных звеньев (DP 3-30).
4. Ингредиент по любому из предыдущих пунктов, дополнительно содержащий дрожжи, выбранные среди штаммов *Saccharomyces cerevisiae*, включая отработанные пивные дрожжи и отработанные дистилляционные дрожжи, а также отработанные дрожжи от производства вина, биоэтанольные дрожжи или отработанные дрожжи от производства биоэтанола, пекарские дрожжи и штаммы дрожжей, сбраживающие сахара C5.
5. Ингредиент по любому из предыдущих пунктов, который содержит дрожжи в количестве от 0,05 до 10%, в частности, 0,10%, 0,15%, 0,20%, 0,25%, 0,5%, 1%, 1,5%, 2%, 2,5%, 3%, 3,5%, 4%, 4,5, 5%, 6%, 7%, 8% или 9%.
6. Ингредиент по любому из предыдущих пунктов, в котором олигосахариды раффиноза, стахиоза и вербаскоза, присутствующие в соевой шелухе, являются полностью или частично расщепленными.
7. Ингредиент по любому из предыдущих пунктов, дополнительно содержащий один или более микроорганизмов и/или метаболитических продуктов разложения углеводов соевой шелухи одним или более микроорганизмами.
8. Ингредиент по п. 7, дополнительно содержащий молочнокислые бактерии и/или метаболитические продукты разложения углеводов соевой шелухи молочнокислыми бактериями.

9. Способ получения кормового или пищевого ингредиента по любому из предыдущих пунктов, включающий следующие этапы:

- смешивание соевой шелухи с одной или более карбогидразами, выбранными из манназаз(ы), пектиназаз(ы), ксиланазаз(ы), глюканазаз(ы) или целлюлазаз(ы);
- добавление дрожжей в смесь соевой шелухи и карбогидраз(ы);
- гидролиз смеси в условиях, при которых содержание сухого вещества составляет 55 мас.% или менее, в течение периода времени от 1 до 48 часов при температуре от 20 до 60 °С;
- необязательно, полная инактивация действия одной или более карбогидраз;
- изоляция кормового или пищевого ингредиента.

10. Способ по п. 9, в котором соевую шелуху измельчают перед смешиванием с одной или более карбогидразами.

11. Способ по любому из пп. 9 или 10, в котором дрожжи выбраны среди штаммов *Saccharomyces cerevisiae*, включая отработанные пивные дрожжи и отработанные дистилляционные дрожжи, а также отработанные дрожжи от производства вина, биоэтанольные дрожжи или отработанные дрожжи от производстве биоэтанола, пекарские дрожжи и штаммы дрожжей, сбраживающие сахара C5, в смесь соевой шелухи и карбогидраз(ы) перед этапом гидролиза.

12. Способ по любому из пп. 9–11, который дополнительно включает добавление одного или более микроорганизмов в смесь соевой шелухи и карбогидраз(ы) перед этапом гидролиза.

13. Способ по любому из пп. 9–12, который дополнительно включает добавление молочнокислых бактерий в смесь соевой шелухи и карбогидраз(ы) перед этапом гидролиза.

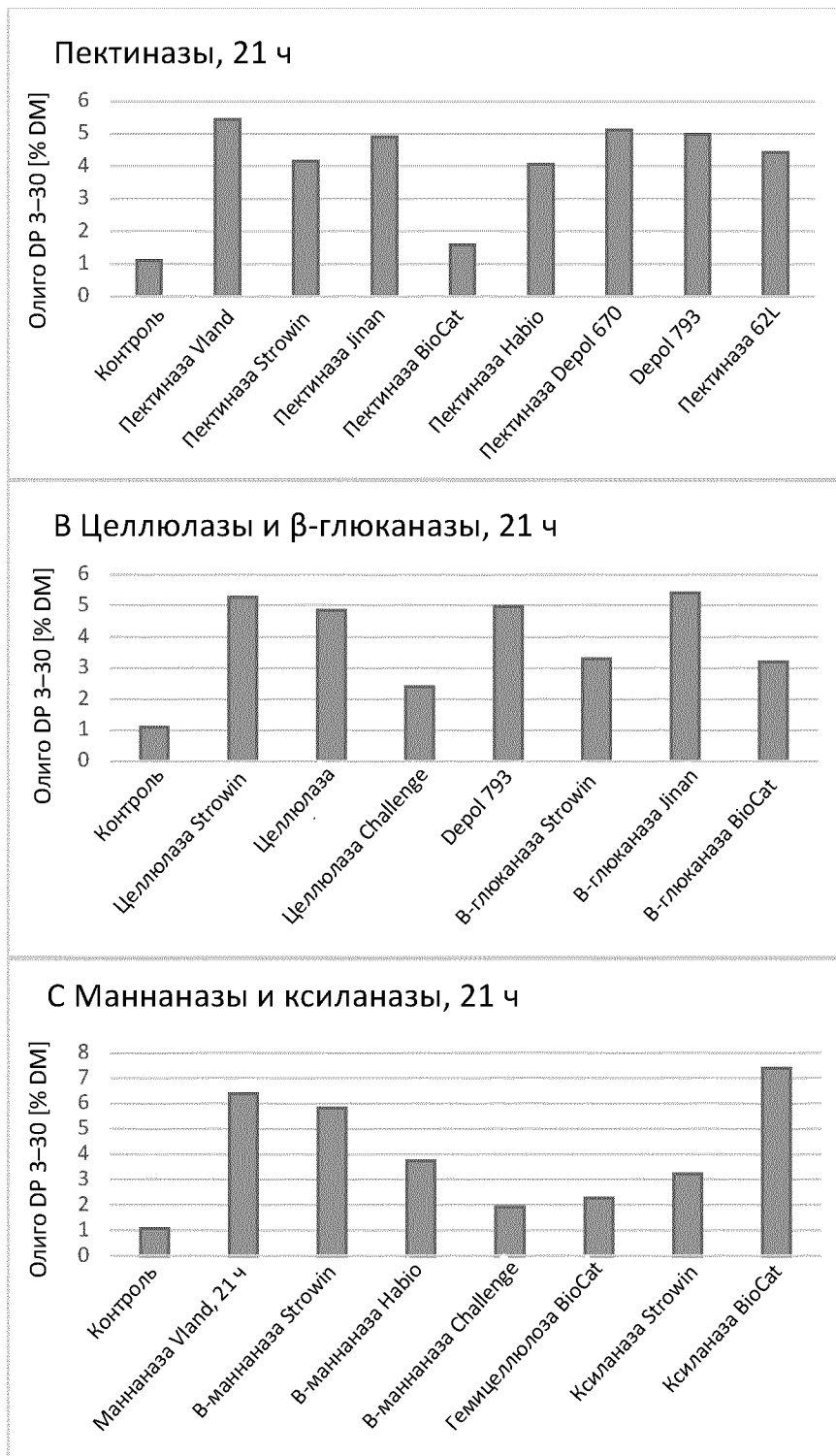
14. Способ по любому из пп. 9–13, который дополнительно включает добавление α -галактозидазы в смесь соевой шелухи и карбогидраз(ы) перед этапом гидролиза.

15. Кормовой или пищевой продукт или пищевая добавка, содержащая от 0,5 до 99 мас.% кормового или пищевого ингредиента по любому из пп. 1–8.

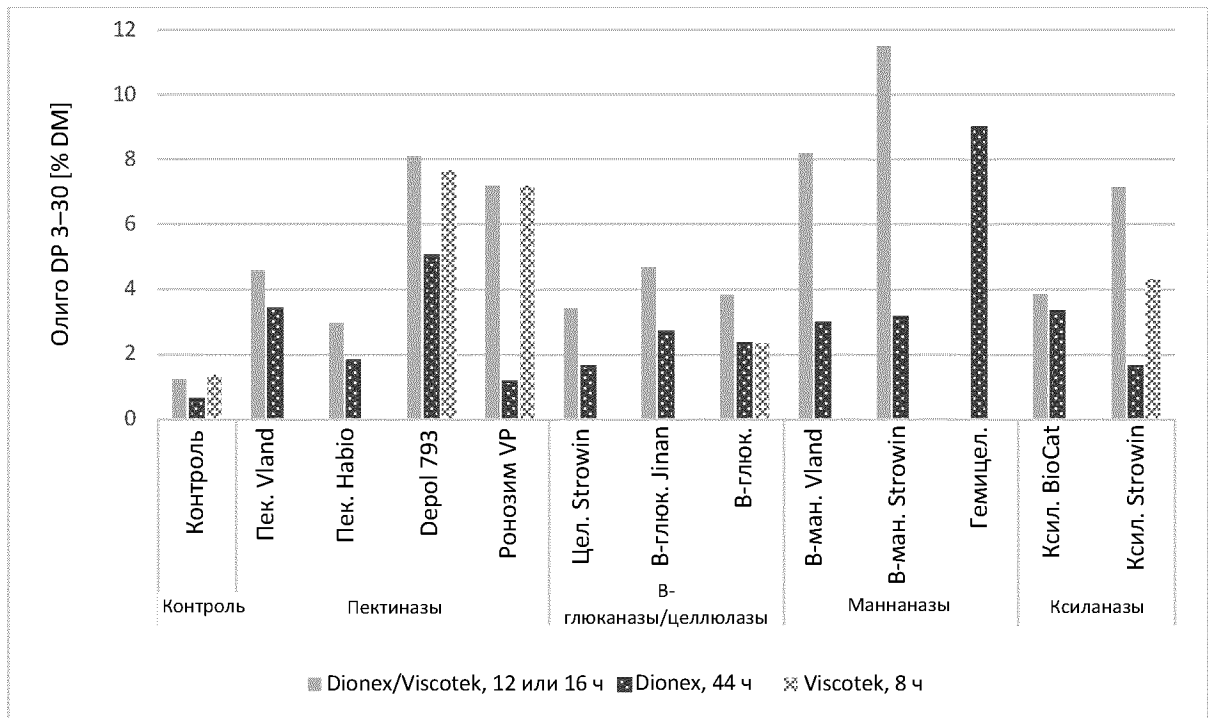
16. Кормовой продукт или пищевая добавка по п. 15, предназначенная для применения в рационе для продуктивных животных, в частности в качестве рациона для улучшения продуктивности.

17. Кормовой продукт по любому из пп. 15–16, предназначенный для применения в рационе для продуктивных животных, предпочтительно новорожденных и молодых животных, в частности, поросят, телят и цыплят, нуждающихся в пребиотических олигосахаридах.

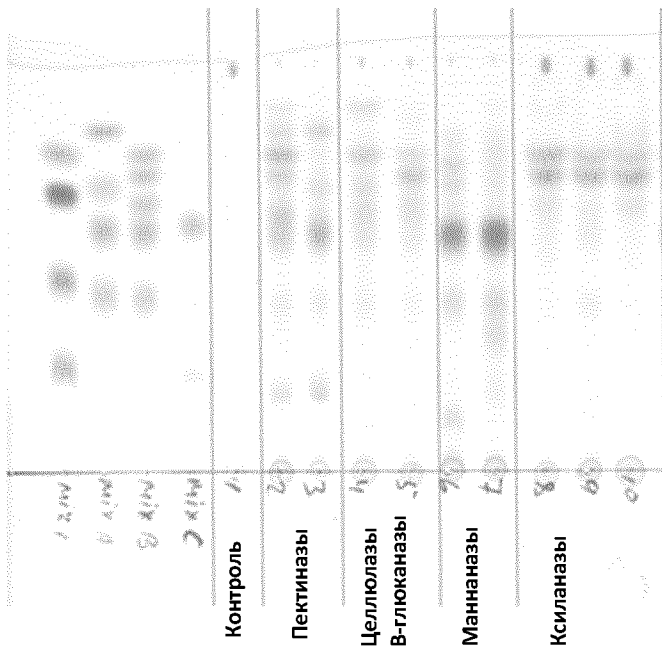
18. Применение кормового ингредиента по любому из пп. 1–8 в рационе для продуктивных животных, предпочтительно новорожденных и молодых животных, в частности, поросят, телят и цыплят.



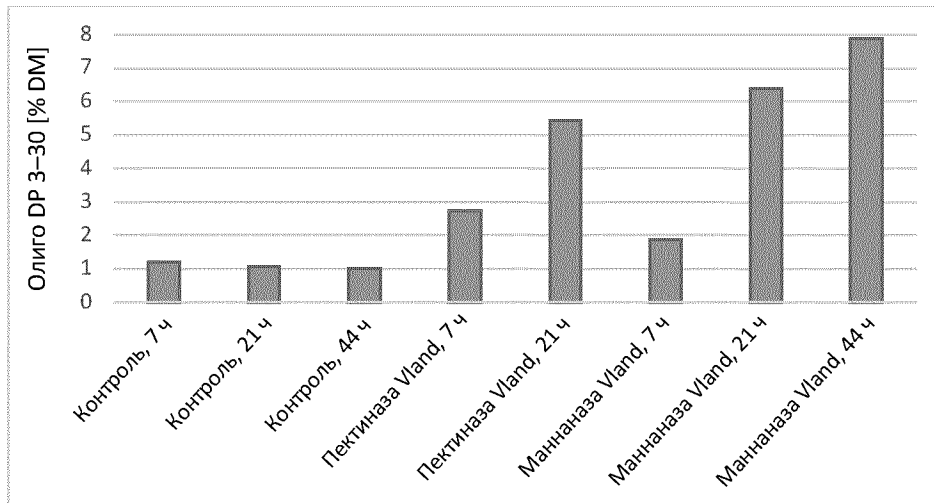
Фиг. 1



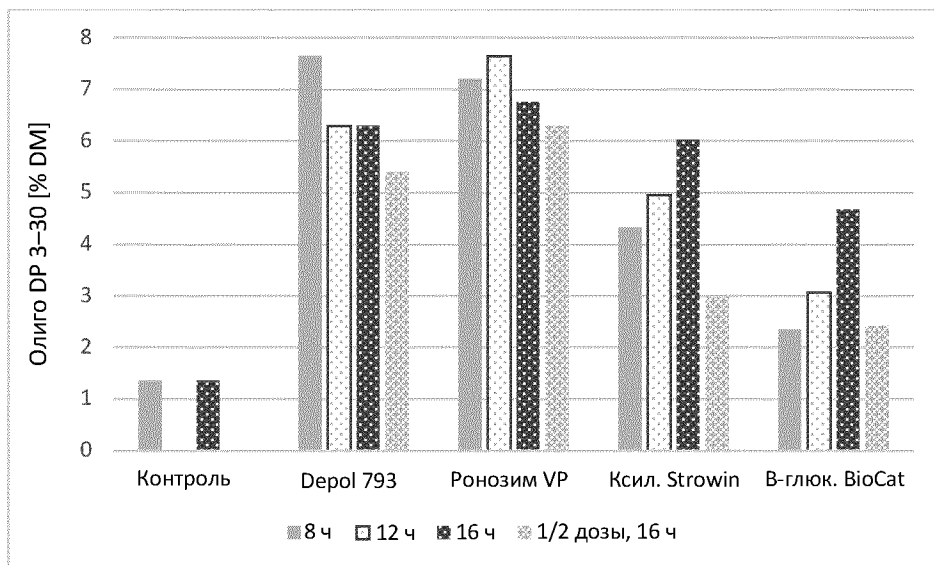
Фиг. 2



Фиг. 3



Фиг. 4



Фиг. 5

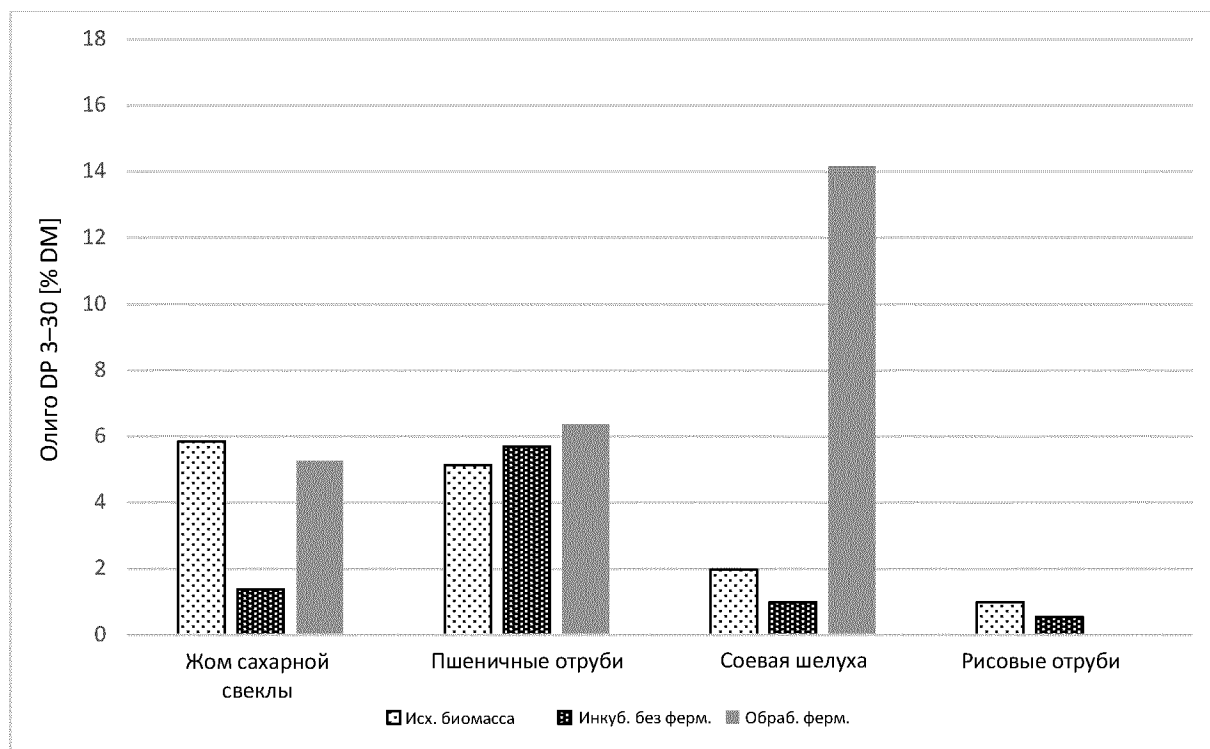
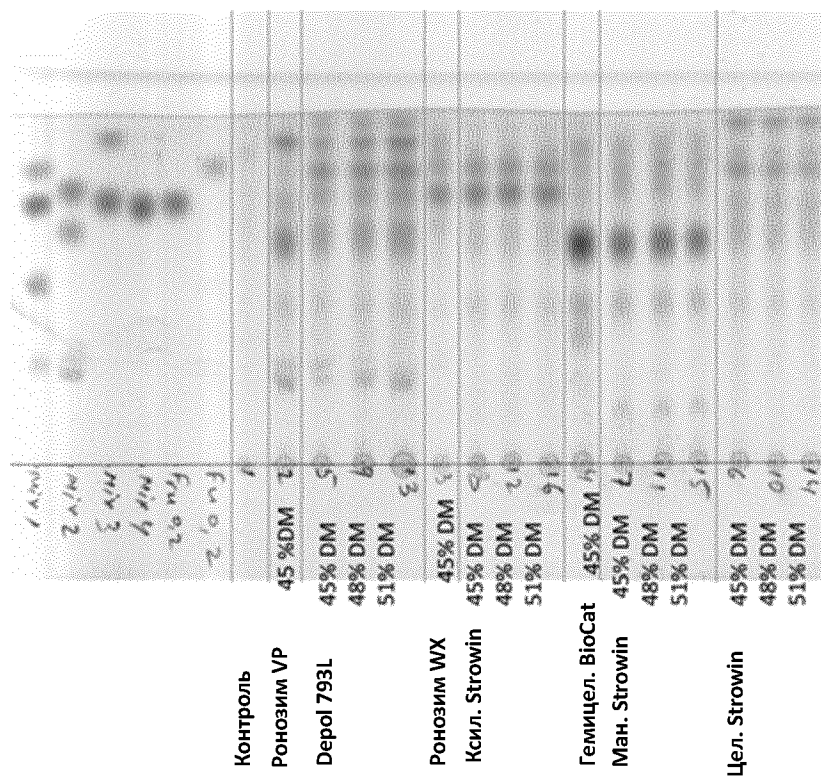
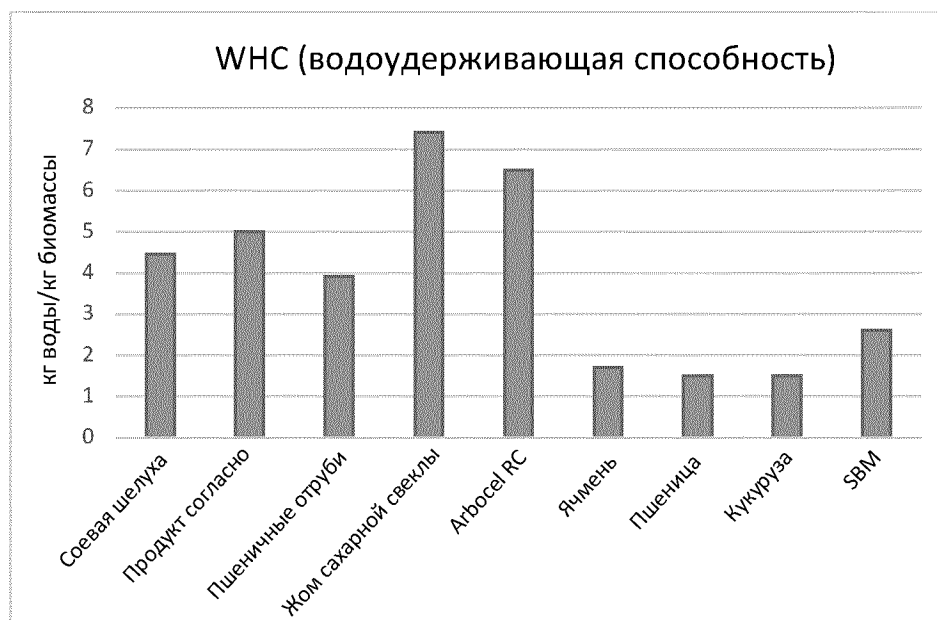


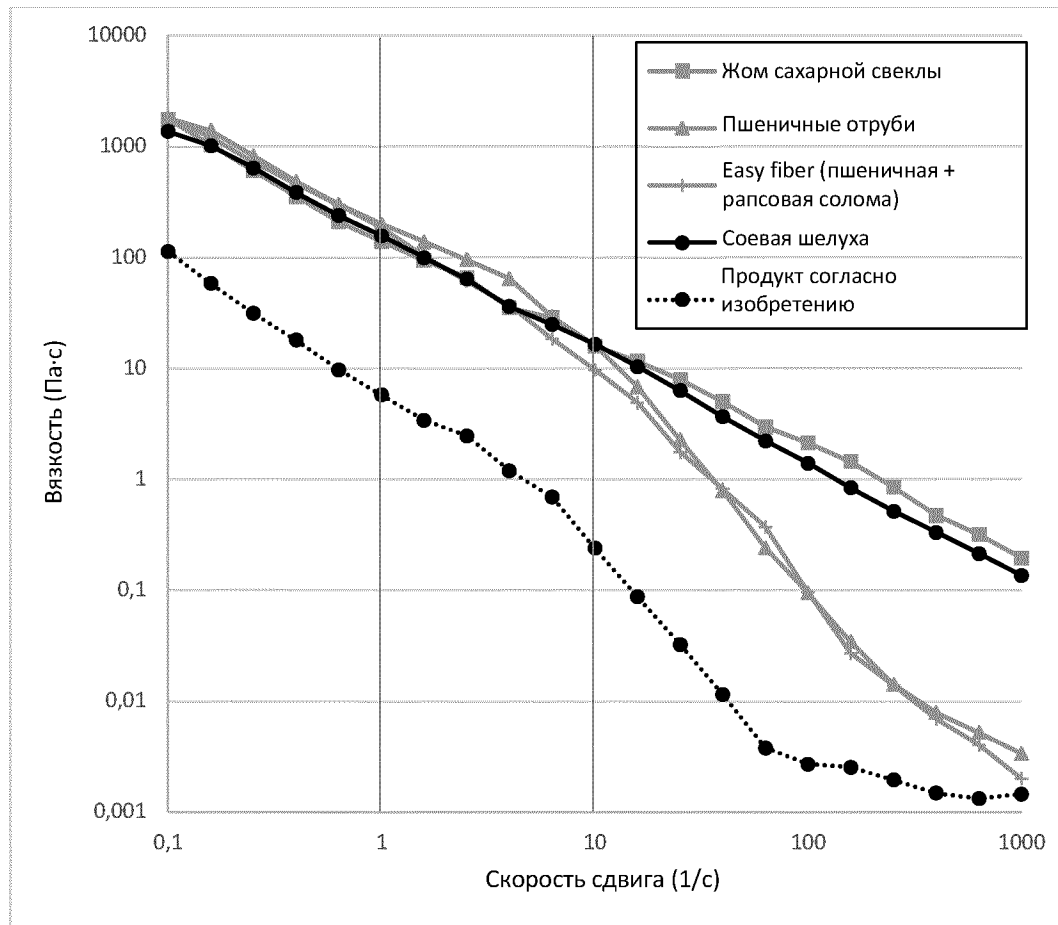
Рис. 6



Фиг. 7



Фиг. 8



Фиг. 9