

УДК 636.087.69

DOI: 10.25687/1996-6733.prodanimbiol.2026.2.66-73

## МОДИФИЦИРОВАННЫЙ ДВУХЭТАПНЫЙ ФЕРМЕНТАТИВНЫЙ ГИДРОЛИЗ *IN VITRO* ДЛЯ ОЦЕНКИ ПЕРЕВАРИМОСТИ КОРМОВ ЖИВОТНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ

<sup>1</sup>Хамви М.Н., <sup>2</sup>Буряков Н.П., <sup>3</sup>Шаповалов С.О., <sup>4</sup>Корнилова Е.В.

<sup>1,2,3</sup>ФГБОУ ВО Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева, Москва, Россия; <sup>4</sup>ООО «Научно-испытательный центр НИЦ “Черкизово”

Стандартный одноэтапный метод оценки переваримости кормов *in vitro* (ГОСТ Р 55987-2014), моделирующий только желудочную фазу, может давать заниженную оценку питательной ценности труднорасщепляемых кормов животного происхождения. Цель работы – апробировать усовершенствованный двухэтапный метод последовательного ферментативного гидролиза *in vitro* (пепсин, 6 ч, 45 °С + панкреатин, 18 ч, 37 °С) для сравнительной оценки переваримости сырого протеина и сухого вещества коммерческих образцов мясокостной и перьевой муки. Исследовано 18 образцов каждого вида муки от различных производителей. Параллельно проводилась оценка по стандартному методу (ГОСТ) для сравнения. Для статистического анализа рассчитывали средние значения, стандартные отклонения, коэффициенты корреляции и детерминации. Показано, что двухэтапный метод демонстрирует статистически значимо более высокие (на 20–35%) значения переваримости протеина для нативных образцов мясокостной и перьевой муки по сравнению со стандартным методом. Установлены принципиальные различия во взаимосвязи изучаемых показателей для двух видов сырья: для мясокостной муки корреляция между переваримостью сухого вещества и протеина была слабой ( $r = 0,348$ ), в то время как для перьевой муки – очень сильной ( $r = 0,958$ ). Выявлена значительная вариабельность в переваримости между разными партиями сырья (например, переваримость протеина перьевой муки колебалась от 23,9 до 80,7%). Полученные данные свидетельствуют, что модифицированный двухэтапный метод является более точным инструментом для оценки истинного питательного потенциала кормов животного происхождения и может быть рекомендован для использования в практике контроля качества сырья и формулирования рационов.

*Ключевые слова:* корма животного происхождения, переваримость *in vitro*, ферментативный гидролиз, мясокостная мука, перьевая мука, сырой протеин, питательная ценность, метод Бойзена

*Проблемы биологии продуктивных животных. 2026. 2:66-73*

### Введение

Оценка истинной питательной ценности кормов, в частности переваримости протеина, является фундаментальной задачей в кормлении сельскохозяйственных животных и птицы. Корма животного происхождения, такие как мясокостная (МКМ) и перьевая мука (ПМ), занимают важное место в структуре рационов высокопродуктивных животных, выступая в качестве концентрированных источников протеина и аминокислот. Однако их высокая потенциальная питательность может быть реализована лишь в том случае, если белки доступны для ферментативного гидролиза в желудочно-кишечном тракте. Для МКМ и ПМ эта задача осложняется наличием в их составе структурных белков (коллаген, кератин), устойчивых к воздействию пищеварительных ферментов (Гречкина и др., 2024; Муржа и др., 2019). Коллаген, обладая фибриллярной структурой, и кератин, стабилизированный дисульфидными связями,

требуют более жестких условий для расщепления по сравнению с мышечными белками. В связи с этим, методы лабораторной оценки переваримости должны учитывать специфику этих субстратов, чтобы не занижать и не завышать их реальную ценность для организма. Стандартизированные методы *in vitro*, например, регламентированный ГОСТ Р 55987-2014, широко используются для рутинной оценки, так как позволяют получить быстрый и воспроизводимый результат без использования дорогостоящих экспериментов на животных (Кравайнис и др., 2021). Однако данный метод предусматривает только одноэтапную инкубацию с пепсином, моделируя исключительно желудочную фазу пищеварения. Для большинства традиционных кормов (зерновые, шроты) этого может быть достаточно для приблизительной характеристики. Но для труднорасщепляемых субстратов животного происхождения желудочный гидролиз является лишь начальным этапом; основное расщепление полипептидов до аминокислот и мелких пептидов происходит в тонком кишечнике под действием комплекса панкреатических ферментов (трипсин, химо tripsин, эластаза, карбоксипептидазы) (Муржа и др., 2019; Boisen & Fernández, 1997). Игнорирование кишечной фазы при использовании одноэтапного метода может приводить к существенному занижению оценки полной физиологической переваримости таких кормов, что влечет за собой неверное прогнозирование продуктивного действия и, как следствие, экономические потери при балансировании рационов.

Более адекватными представляются двухэтапные методы последовательного ферментативного гидролиза, имитирующие как желудочную, так и кишечную фазы пищеварения. Классическим подходом является метод, предложенный Boisen & Fernández, который предусматривает инкубацию с пепсином в кислой среде с последующей обработкой панкреатином при нейтральном pH. Этот метод и его последующие модификации, направленные на оптимизацию временных параметров, ферментативной активности и условий инкубации, позволяют более точно прогнозировать *in vivo* переваримость разнообразных кормов для свиней и птицы (Kim et al., 2024; Safari et al., 2024). Несмотря на очевидные теоретические преимущества и широкое признание в мировой научной практике, применение таких усовершенствованных протоколов для сравнительной оценки широкого спектра коммерческого сырья, представленного на российском рынке, освещено недостаточно. В большинстве случаев производители и лаборатории продолжают пользоваться устаревшими одноэтапными методиками, что не позволяет объективно ранжировать продукцию разных производителей по качеству и выявлять партии с низкой реальной усвояемостью.

Целью настоящей работы явилось практическое применение модифицированного двухэтапного метода *in vitro* (пепсиновый гидролиз, 6 ч + панкреатиновый гидролиз, 18 ч) для сравнительной оценки переваримости сухого вещества и сырого протеина коммерческих образцов мясокостной и перьевой муки, а также сопоставление получаемых данных с результатами стандартного одноэтапного метода (ГОСТ Р 55987-2014).

Предлагаемая методика предназначена для оценки переваримости кормов у моногастричных животных (свиньи, птица), так как двухэтапный гидролиз имитирует последовательную ферментативную обработку в желудке и тонком кишечнике, что характерно для этих видов.

### **Материал и методы**

Экспериментальная работа была выполнена на базе Научно-испытательного центра Группы Компаний «Черкизово». Объектом исследования служили коммерческие образцы кормов животного происхождения, отобранные на российском рынке: мясокостная мука (МКМ, n=18) и перьевая мука (ПМ, n=18) от различных производителей. Для каждого образца предварительно определяли содержание сырого протеина по методу Кьельдаля и сырого жира экстракцией петролейным эфиром в соответствии со стандартными методиками. Оценку переваримости *in vitro* проводили параллельно тремя методами: стандартным одноэтапным по

ГОСТ Р 55987-2014 двухэтапным методом и модифицированным двухэтапным последовательного ферментативного гидролиза; все определения выполняли в трех аналитических повторностях. (Boisen & Fernández, 1997; Liu et al., 2024). Стандартный одноэтапный метод выполняли в точном соответствии с ГОСТ Р 55987-2014 (ГОСТ Р 55987-2014). Обезжиренную и тонкоизмельченную пробу (частицы  $\leq 0,85$  мм) инкубировали в 0,2% растворе пепсина свиного происхождения (активность 320–1000 ед./мг) на 0,075 М растворе HCl при температуре  $(45 \pm 1)$  °С в течение 16 ч с постоянным перемешиванием. Нерастворимый остаток отделяли фильтрованием, высушивали и взвешивали. Переваримость сырого протеина рассчитывали по разнице содержания азота в исходной пробе и в остатке. Модифицированный двухэтапный метод был основан на подходе Boisen & Fernández с оптимизацией времени инкубации. Первый этап (желудочная фаза) заключался в инкубации навески образца ( $\approx 0,5$  г) с 0,2% раствором пепсина в 0,075 М HCl при 45 °С в течение 6 ч. После этого реакционную смесь нейтрализовали до pH 7,5, добавляли раствор панкреатина и проводили второй этап (кишечная фаза) при 37 °С в течение 18 ч. Нерастворимый остаток отделяли фильтрованием через беззольные фильтры, промывали, сушили при  $(105 \pm 2)$  °С до постоянной массы и взвешивали. Переваримость сухого вещества (ПСВ, %) рассчитывали по потере массы навески, а переваримость сырого протеина (ПП, %) – по разнице массовой доли азота (метод Кьельдаля) в исходном образце и в негидролизованном остатке. Стандартное отклонение ( $\sigma$ ) в таблицах результатов рассчитано на основе относительного стандартного отклонения повторяемости модифицированного двухэтапного метода ( $RSD_{\sim r} = 1,8\%$ ), полученной в условиях сходимости (шесть параллельных определений одного образца). Для каждого образца в эксперименте анализ проводили в трех параллельных повторностях ( $n=3$ ).

Статистическую обработку данных проводили с использованием программ Microsoft Excel 2019 и Past 4.03. Для каждой серии образцов рассчитывали среднее арифметическое значение ( $M$ ) и стандартное отклонение ( $\sigma$ ). Для оценки взаимосвязи между переваримостью сухого вещества и сырого протеина вычисляли коэффициент линейной корреляции Пирсона ( $r$ ) и коэффициент детерминации ( $R^2$ , %). Сравнение методов оценки (одноэтапный vs. двухэтапный) проводили на основе расчета абсолютных и относительных различий в получаемых значениях переваримости.

### Результаты и обсуждение

Результаты сравнительной оценки переваримости коммерческих образцов мясокостной (МКМ) и перьевой муки (ПМ) с применением одноэтапного метода представлены в таблицах 1 и 2. Для каждого вида сырья был проанализирован набор из 18 образцов от различных производителей; в таблицах приведены сводные статистические показатели по всей выборке и данные для отдельных репрезентативных образцов, иллюстрирующих общий разброс значений.

Как видно из таблицы 1, мясокостная мука в целом характеризовалась стабильно высокой и относительно однородной переваримостью. Средняя переваримость сухого вещества (ПСВ) для всей выборки составила 89,5%, а сырого протеина (ПП) — 90,8%, при этом диапазон индивидуальных значений был довольно узким: от 86,7 до 93,2% для ПСВ и от 88,2 до 93,8% для ПП. Столь высокие и близкие показатели свидетельствуют о том, что даже стандартный одноэтапный протокол, моделирующий только желудочную фазу, позволяет достаточно эффективно гидролизовать основные питательные компоненты МКМ. Это, вероятно, связано с тем, что белки мясокостной муки (в основном коллаген и мышечные белки) после технологической обработки (варка, сушка, измельчение) становятся достаточно доступными для действия пепсина. Тем не менее, разброс в значениях, хотя и небольшой, все же присутствует, что указывает на влияние технологических особенностей разных производителей на конечное качество продукта.

Статистический анализ выявил слабую положительную корреляцию между изучаемыми параметрами ( $r = 0,348$ ). Низкий коэффициент детерминации ( $R^2 = 12,13\%$ ) указывает на то, что

вариабельность в усвояемости протеина у МКМ в значительной степени не зависит от колебаний в переваримости сухой органической массы. Другими словами, изменение переваримости сухого вещества лишь на 12% объясняет изменение переваримости протеина. Остальные 88% вариабельности протеина, по-видимому, связаны с другими факторами, такими как степень денатурации белка, содержание трудногидролизующих соединительнотканых фрагментов или неравномерное распределение компонентов в разных частицах пробы. Это подтверждает, что для мясокостной муки переваримость сухого вещества не может служить надежным предиктором переваримости протеина, и эти два показателя необходимо оценивать независимо.

*Таблица 1. Переваримость сухого вещества и сырого протеина образцов мясокостной муки (МКМ) по одноэтапному методу in vitro*

Показатель / Образец	Переваримость сухого вещества, % (M±σ)	Переваримость сырого протеина, % (M±σ)
По выборке (n=18 образцов)	89,5 ± 1,6 (диапазон: 86,7–93,2)	90,8 ± 1,6 (диапазон: 88,2–93,8)
<i>Пример: МКМ 1 (макс. ПСВ)</i>	93,2 ± 1,7	90,5 ± 1,6
<i>Пример: МКМ 10 (макс. ПП)</i>	91,6 ± 1,6	93,4 ± 1,7
<i>Пример: МКМ 16 (мин. ПСВ)</i>	86,7 ± 1,6	89,3 ± 1,6
Коэффициент корреляции (r)	0,348	
Коэффициент детерминации (R <sup>2</sup> ), %	12,13	

\*Примечание: Стандартное отклонение рассчитано на основе  $RSD_{\sim r} = 1,8\%$

Совершенно иная картина наблюдалась для перьевой муки (таблица 2). Для этого вида сырья была характерна исключительно высокая вариабельность питательной ценности: средняя переваримость была существенно ниже, а разброс значений — значительно шире, чем у МКМ. Так, средняя ПСВ составила всего 58,1%, а средняя ПП — 61,5%. Однако наиболее показательным является широчайший диапазон индивидуальных значений: переваримость протеина колебалась от крайне низких 23,9% до вполне высоких 80,7%. Это наглядно демонстрирует, что качество перьевой муки на рынке крайне неоднородно и напрямую зависит от эффективности технологического процесса гидролиза жесткого кератина на производстве. Плохо обработанная мука будет иметь очень низкую питательную ценность, практически не усваиваясь животными, в то время как качественно гидролизованная мука может конкурировать по переваримости протеина с некоторыми партиями мясокостной муки.

*Таблица 2. Переваримость сухого вещества и сырого протеина образцов перьевой муки (ПМ) по одноэтапному методу in vitro*

Показатель / Образец	Переваримость сухого вещества, % (M±σ)	Переваримость сырого протеина, % (M±σ)
По выборке (n=18 образцов)	58,1 ± 1,0 (диапазон: 20,3–82,1)	61,5 ± 1,1 (диапазон: 23,9–80,7)
<i>Пример: ПМ 1 (мин. значения)</i>	20,3 ± 0,4	28,7 ± 0,5
<i>Пример: ПМ 7 (средние значения)</i>	64,7 ± 1,2	68,6 ± 1,2
<i>Пример: ПМ 16 (макс. значения)</i>	82,1 ± 1,5	80,7 ± 1,5
Коэффициент корреляции (r)	0,958	
Коэффициент детерминации (R <sup>2</sup> ), %	91,79	

\*Примечание: Стандартное отклонение рассчитано на основе  $RSD_{\sim r} = 1,8\%$

При этом между ПСВ и ПП была установлена очень сильная прямая зависимость (r = 0,958). Коэффициент детерминации (91,79%) демонстрирует, что почти вся изменчивость в усвояемости протеина перьевой муки напрямую обусловлена изменчивостью в переваримости сухой массы. Эта закономерность имеет четкое физико-химическое объяснение. Основным компонентом сухого вещества перьевой муки является белок кератин. Успешность его гидролиза

в процессе производства (разрушение дисульфидных связей) является ключевым фактором, определяющим доступность всех питательных веществ для ферментов. Если кератиновая матрица разрушена хорошо, то ферменты получают доступ и к белку, и к небольшому количеству сопутствующих липидов и углеводов, что повышает общую переваримость сухого вещества. Если же гидролиз прошел неэффективно, нерастворимый кератин остается негидролизованным, что одновременно снижает и переваримость протеина, и общую потерю массы сухого вещества.

Принципиальное различие в характере корреляционных взаимосвязей, по-видимому, обусловлено технологическими факторами и спецификой сырья. Высокая и стабильная переваримость МКМ связана с относительно однородным составом и хорошей исходной доступностью питательных веществ, где протеолиз не является лимитирующей стадией. Напротив, ключевым фактором питательной ценности ПМ является степень гидролиза жесткой кератиновой матрицы в процессе производства. Успешность этого процесса синхронно влияет на доступность как органической массы в целом, так и протеина в частности, что и объясняет обнаруженную сильную корреляцию.

Сравнительный анализ эффективности одноэтапного (ГОСТ) и двухэтапного методов для ключевых типов сырья (таблица 3) показал, что для нативных образцов МКМ и ПМ одноэтапный метод дает статистически значимо заниженные оценки переваримости протеина. Различия достигали 24,8 и 20,9 процентных пунктов соответственно. Это убедительно доказывает, что жесткие условия длительного пепсинового гидролиза (16 ч) по ГОСТ, хотя и способны частично расщепить субстрат, не могут имитировать синергетическое действие всего комплекса панкреатических ферментов (трипсин, химотрипсин, эластаза, карбоксипептидазы) в щелочной среде кишечника. Именно этот второй этап позволяет дополнительно гидролизовать крупные пептиды, образовавшиеся в желудке, и высвободить дополнительное количество аминокислот и азота. Для высокогидролизованного продукта (мука из крови) тенденция была обратной, что может указывать на избыточную агрессивность стандартного пепсинового гидролиза для такого типа сырья или на потерю легкогидролизующихся фракций в ходе более длительной двухэтапной процедуры.

Таблица 3. Сравнительная оценка переваримости сырого протеина стандартным (ГОСТ) и модифицированным двухэтапным методом *in vitro* (M, n=3), %

Матрица	Одноэтапный метод (ГОСТ Р 55987-2014) (M±σ) пепсин 16 ч	Метод Бойзена (Boisen & Fernandez, 1997; пепсин 3 ч + панкреатин 24 ч	Двухэтапный метод (модиф. Boisen) (M±σ); пепсин 6 ч + панкреатин 18 ч	Абсолютная разница**
Мука из крови	94,2 ± 1,7	84,70 ± 1,4	85,5 ± 1,5	-8,7
Мясокостная мука (свиная)	70,1 ± 1,3	92,70 ± 1,5	94,9 ± 1,7	+24,8
Мясокостная мука (куриная)	66,1 ± 1,2	90,00 ± 1,4	90,8 ± 1,6	+24,7
Перьевая мука (образец 1)	54,5 ± 1,0	73,40 ± 1,2	75,4 ± 1,4	+20,9
Перьевая мука (образец 2)	59,3 ± 1,1	72,3 ± 1,3	77,1 ± 1,4	+17,8

\*Примечание: Стандартное отклонение рассчитано на основе  $RSD \sim r \sim 1,8\%$

\*\*Примечание: Абсолютная разница между одноэтапным методом (ГОСТ) и двухэтапным методом (модифицированным)

Особенно важно отметить, что наши результаты, полученные модифицированным методом (пепсин 6 ч + панкреатин 18 ч), хорошо согласуются с данными, полученными по классическому

протоколу Бойзена (пепсин 3 ч + панкреатин 24 ч). Небольшие различия в абсолютных цифрах (например, 94,9% против 92,7% для свиной МКМ) могут быть связаны с оптимизацией временных параметров, которая, вероятно, позволила достичь более полного гидролиза в нашей модификации. Это подтверждает, что предложенный нами протокол является не только более физиологичным по сравнению с ГОСТ, но и, как минимум, не уступает, а в некоторых случаях и превосходит по эффективности признанные мировые аналоги.

Таким образом, полученные данные свидетельствуют, что стандартный метод (ГОСТ Р 55987-2014), моделирующий лишь желудочное пищеварение, не позволяет адекватно оценить полный физиологический потенциал переваримости труднорасщепляемых кормов животного происхождения. Внедрение двухэтапного протокола, включающего кишечную фазу, обеспечивает более полную и, следовательно, более точную оценку. Выявленная значительная вариабельность в переваримости коммерческих образцов (особенно ПМ) подчеркивает важность использования таких усовершенствованных методов для объективного контроля качества сырья и оптимизации рецептур комбикормов. Использование же устаревших одноэтапных методов может приводить к систематической недооценке питательной ценности дорогостоящих высокобелковых ингредиентов и, как следствие, к неэффективному и экономически невыгодному их использованию в кормлении.

### **Заключение**

На основании проведенных исследований, посвященных применению модифицированного двухэтапного метода *in vitro* для оценки кормов животного происхождения, можно сделать следующие выводы:

1. Модифицированный двухэтапный метод последовательного ферментативного гидролиза (пепсин, 6 ч + панкреатин, 18 ч) демонстрирует существенные преимущества перед стандартным одноэтапным методом (ГОСТ Р 55987-2014) при оценке переваримости труднорасщепляемого сырья, такого как мясокостная и перьевая мука. Для нативных образцов этих кормов он позволяет получить статистически значимо более высокие (на 20--35%) значения переваримости сырого протеина. Это критически важно для точного прогнозирования их питательной ценности, так как игнорирование кишечной фазы пищеварения приводит к существенной недооценке количества протеина и аминокислот, которые животное реально может усвоить.
2. Установлены принципиальные различия в характере взаимосвязи между переваримостью сухого вещества и сырого протеина для разных видов сырья. Для мясокостной муки эта связь слабая ( $r = 0,348$ ), что свидетельствует об относительной независимости данных показателей в рамках высокого и стабильного уровня усвояемости. Это означает, что контроль качества МКМ должен включать прямое определение обоих параметров. Для перьевой муки выявлена исключительно сильная прямая корреляция ( $r = 0,958$ ), что указывает на доминирующую роль эффективности технологического гидролиза кератина как общего фактора, определяющего доступность всех питательных веществ. В связи с этим, для экспресс-оценки качества перьевой муки показатель переваримости сухого вещества может служить достаточно надежным индикатором переваримости протеина.
3. Практическое применение метода выявило значительную вариабельность в переваримости коммерческих образцов, особенно перьевой муки (диапазон переваримости протеина — от 23,9 до 80,7%). Это подчеркивает настоятельную необходимость регулярного и объективного лабораторного контроля каждой поступающей партии сырья, а не использования усредненных справочных данных. Использование последних может привести к серьезным ошибкам при балансировании рационов и, как следствие, к снижению продуктивности животных или неоправданному удорожанию кормов.
4. Необходимо отметить, что полученные данные являются косвенным свидетельством качества белковых добавок, так как не сопровождаются прямыми измерениями продуктивного

действия (прирост живой массы, конверсия корма, усвояемость аминокислот *in vivo*). Для окончательной валидации модифицированного двухэтапного метода и рекомендации его в качестве рутинного лабораторного скрининга требуются дальнейшие исследования, включающие сравнительный анализ результатов *in vitro* с показателями продуктивности животных, получавших соответствующие корма.

5. Предложенный двухэтапный протокол является надежным, воспроизводимым инструментом и может быть рекомендован для внедрения в практику научных исследований, а также для использования в производственных лабораториях с целью контроля качества сырья и научно обоснованной оптимизации рецептур комбикормов. Внедрение такого подхода в отрасль будет способствовать более эффективному использованию белковых ресурсов, повышению экономической эффективности животноводства и птицеводства, а также обеспечит более стабильное качество конечной продукции за счет точного учета реальной питательной ценности используемых ингредиентов.

### Список литературы

1. Гречкина В.В., Шейда Е.В., Кван О.В. Механизм взаимодействия организма животного микробиотой желудочно-кишечного тракта (обзор). *Аграрная наука*. 2024;(4):54-58. <https://doi.org/10.32634/0869-8155-2024-381-4-54-58>
2. ГОСТ Р 55987-2014. Корма, комбикорма, комбикормовое сырье. Метод определения переваримости *in vitro*. М.: Стандартинформ, 2014. 11 с.
3. Кравайнис Ю.Я., Кравайне Р.С., Шкрабак Р.В. [и др.] Исследование кормов на безопасность и питательность и контроль за полноценностью кормления // *Аграрный научный журнал*. 2021. № 9. С. 63-66.
4. Муржа И.И., Полупан Ю.П., Кебко В.Г., Дедова Л.А. Современные технологии переработки отходов птицеводства и производства высокопротеиновых кормовых добавок: отечественный и зарубежный опыт // *Актуальные проблемы интенсивного развития животноводства*. 2019. № 22(2). С. 3-7.
5. Boisen S., Fernández J.A. *In vitro* digestibility of energy and amino acids in pig feeds // *Digestive Physiology in Pigs: Proceedings of the 5th International Symposium on Digestive Physiology in Pigs*. Wageningen: Wageningen Academic Publishers, 1991. P. 231-236.
6. Cervantes-Pahm S.K., Stein H.H. Effect of dietary soybean oil and soybean protein concentration on the concentration of digestible amino acids in soybean products fed to growing pigs // *J. Anim. Sci.* 2008. Vol. 86. Nr 8. P. 1841-1849.
7. Kim H.Y., Moon J.O., Kim S.W. Development and application of a multi-step porcine *in vitro* system to evaluate feedstuffs and feed additives for their efficacy in nutrient digestion, digesta characteristics, and intestinal immune responses // *Animal Nutrition*. 2024. Vol. 17. P. 265-282. DOI: 10.1016/j.aninu.2024.03.010.
8. Safari H., Mohit A., Asli M.M., et al. *In vitro* and *in vivo* evaluation of the nutritional value of various hydrolyzed feather meals and comparison of their effect on performance and carcass characteristics of broilers // *Heliyon*. 2024. Vol. 10. No. 21. e39655. DOI: 10.1016/j.heliyon.2024.e39655.
9. Sung J.Y., Ragland D., Wiltafsky-Martin M.K., Adeola O. Amino acid digestibility reduction in heat-damaged meat and bone meal fed to broiler chickens and growing pigs // *Journal of Animal Science*. 2025. Vol. 103. skaf262. DOI: 10.1093/jas/skaf262.
10. Liu Y., Zhang H., Zhao Y., et al. Enzymatic hydrolysis processing of soybean meal altered its structure and *in vitro* protein digestive dynamics in pigs // *Frontiers in Veterinary Science*. 2024. Vol. 11. 1503817. DOI: 10.3389/fvets.2024.1503817.

### References (for publications in Russian)

1. Grechkina V.V., Sheida E.V., Kvan O.V. The mechanism of interaction of the animal's body with the microbiota of the gastrointestinal tract (review). *Agrarian science*. 2024;(4):54-58. (In Russ.) <https://doi.org/10.32634/0869-8155-2024-381-4-54-58>
2. GOST R 55987-2014. Feeds, mixed feeds, feed raw materials. Method for determining digestibility in vitro. Moscow: Standartinform, 2014. 11 p. (In Russ.)
3. Kravaynis Yu.Ya., Kravayne R.S., Shkrabak R.V. [et al.] Study of feeds for safety and nutritional value and monitoring the completeness of feeding // *Agrarian Scientific Journal*. 2021. No. 9. Pp. 63-66. (In Russ.)
4. Murzha I.I., Polupan Yu.P., Kebko V.G., Dedova L.A. Modern technologies for processing poultry waste and producing high-protein feed additives: domestic and foreign experience // *Actual problems of intensive development of animal husbandry*. 2019. No. 22(2). Pp. 3-7. (In Russ.)

UDC: 636.087.69

### Modified two-step enzymatic hydrolysis in vitro for assessing the digestibility of animal-derived feedstuffs

<sup>1</sup>Hamvi M. N., <sup>2</sup>Buryakov N. P., <sup>3</sup>Shapovalov S.O., <sup>4</sup>Kornilova E.V.

<sup>1,2,3</sup>Russian state agrarian university K. A. Timiryazev, Moscow, Russia

<sup>4</sup>Research and testing center «CHERKIZOVO», Moscow, Russia

**ABSTRACT.** The standard single-stage *in vitro* digestibility assay (GOST R 55987-2014), which simulates only the gastric phase, may underestimate the nutritional value of hard-to-digest animal feed ingredients. This study aimed to apply a modified two-stage *in vitro* enzymatic hydrolysis method (pepsin, 6 h, 45 °C + pancreatin, 18 h, 37 °C) for the comparative assessment of crude protein and dry matter digestibility in commercial meat-and-bone meal (MBM) and feather meal (FM) samples. Eighteen samples of each feedstuff from various producers were analyzed. A parallel evaluation using the standard GOST method was performed for comparison. Statistical analysis included calculation of mean values, standard deviations, correlation, and determination coefficients. The two-stage method showed statistically significantly higher (by 20–35%) protein digestibility values for native MBM and FM samples compared to the standard method. Fundamental differences in the relationship between the studied parameters for the two feedstuffs were established: for MBM, the correlation between dry matter and protein digestibility was weak ( $r = 0.348$ ), while for FM it was very strong ( $r = 0.958$ ). Considerable variability in digestibility between different batches of raw materials was revealed (e.g., protein digestibility of FM ranged from 23.9 to 80.7%). The obtained data indicate that the modified two-stage method is a more accurate tool for assessing the true nutritional potential of animal-derived feeds and can be recommended for quality control of raw materials and diet formulation.

*Keywords:* animal feedstuffs, *in vitro* digestibility, enzymatic hydrolysis, meat-and-bone meal, feather meal, crude protein, nutritional value, Boisen method.

**Problemy biologii produktivnykh zhivotnykh (Productive Animal Biology). 2026. 2: 66-73**

Поступило в редакцию 10.03.2026

Получено после доработки 09.06. 2026

Сведения об авторах:

**Хамви Мохамад Навар**, аспирант, nawarhamwi95@mail.ru, ORCID:0009-0001-1786-0862

**Буряков Николай Петрович**, д.б.н., зав. кафедрой, n.buryakov@rgau-msha.ru,

ORCID: 0000-0002-6776-0835

**Шаповалов Сергей Олегович**, д.б.н., проф., s.shapovalov@cherkizovo.com,

ORCID: 0000-0002-6776-0835

**Корнилова Елена Вячеславовна**, д. с.-х. н., e.kornilova@cherkizovo.com, ORCID: 0009-0009-9753-5952

УДК: 636.2.084.11

DOI: 10.25687/1996-6733.prodanimbiol.2026.2.74-85

## СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА КОРМОВЫХ ПРЕПАРАТОВ МАГНИЯ НА ОСНОВЕ ОКСИДА И ГИДРОКСИДА В КОРМЛЕНИИ МОЛОЧНЫХ КОРОВ

Василевский Н.В., Харитонов Е.Л.

*Всероссийский научно-исследовательский институт физиологии, биохимии и питания животных — филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр животноводства – ВИЖ имени академика Л.К. Эрнста», Боровск, Калужская обл., Российская Федерация*

Проведена сравнительная оценка  $Mg^{2+}$ -содержащих препаратов предназначенных для балансировки рационов кормления сельскохозяйственных животных. Исследования проведены методом групп-периодов на 6-ти дойных коровах в 2 периода продолжительностью 28 дней каждый на сено-силосно-концентратном рационе. В первый период коровы получали основной рацион, а во второй период коровы были разделены на две группы (по 3 головы), каждая из которых дополнительно к рациону получала окись магния марки (1-ая группа) и гидроокиси магния (2-ая группа). В конце каждого периода были проведены балансовые опыты для определения потребления и использования  $Mg^{2+}$  с кормом с учетом остатков кормов, а также выделения его с калом, мочой и молоком. В пробах кормов, кала, мочи и молока определяли концентрацию  $Mg^{2+}$ . Для оценки усвоения  $Mg^{2+}$  из изученных источников было принято допущение, что переваримость  $Mg^{2+}$  основного рациона остается неизменной, как и эндогенные потери. На основе баланса  $Mg^{2+}$  на основном рационе и при использовании магниевых добавок проводили расчет усвояемости магния из изучаемых его источников дифференцированным методом. Результаты опытов показали, что баланс  $Mg^{2+}$  во всех группах был положительным. Ввод источников  $Mg^{2+}$  в рацион не оказывал влияние на потребление основных кормов. Остатки были не существенными. Обеспеченность рационов  $Mg^{2+}$  была выше во все периоды была несколько выше норм потребностей при данной продуктивности.

Из основного рациона  $Mg^{2+}$  усваивался достаточно на 33,9%, при этом основное выделение происходило с калом и незначительная часть выделялась с молоком и мочой. Увеличение содержания  $Mg^{2+}$  в рационе за счет ввода дополнительных его источников, сопровождалось большими достоверными выделениями этого элемента с калом, но усвоение его из рационов при этом повышалось до 41-42%. Выделение  $Mg^{2+}$  с мочой и молоком, при этом, достоверно не изменялось. Ретенция  $Mg^{2+}$  в организме коров опытных групп была значительно выше, чем на основном рационе. Достоверных различий ни по одному из изученных показателей между опытными группами не обнаружено, что позволяет рекомендовать окись магния и гидроокиси магния к использованию для насыщения рационов дойных коров  $Mg^{2+}$  в целях профилактики гипомagneзии.

*Ключевые слова: окись магния, гидроокиси магния, гипомagneзия, рацион дойных коров.*

*Проблемы биологии продуктивных животных. 2026. 2:74-85*