

РАЗРАБОТКА БИОТЕХНОЛОГИИ БЕЛКОВОЙ ДОБАВКИ КОРМОВОГО НАЗНАЧЕНИЯ

**Волкова Г.С., канд. техн. наук, Куксова Е.В., канд. техн. наук,
Соколова Е.Н., канд. биол. наук, Фурсова Н.А.**

Всероссийский научно-исследовательский институт пищевой биотехнологии – филиал Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федерального исследовательского центра питания, биотехнологии и безопасности пищи» (Москва)

Реферат Разработана новая ресурсосберегающая эффективная технология производства белкового кормового продукта для птицеводства на основе вторичных ресурсов спиртового производства. Проведены испытания кормового продукта при кормлении кур-несушек и цыплят – бройлеров различного возраста, что позволяет рекомендовать его как белковый компонент для комбикормов, премиксов и кормовых добавок.

Ключевые слова: кормовой белковый продукт, пробиотические свойства, обогащение рациона, консорциум живых микроорганизмов

Summary: The new resource-saving effective production technology of proteinaceous fodder product is developed for poultry farming on the basis of secondary resources of spirit production. Tests of fodder product when feeding laying hens and broilers of various age are carried out that allows to recommend him as a proteinaceous component for compound feeds, premixes, feed additives.

Key words: fodder proteinaceous product, pro-biotic properties, enrichment of a diet, consortium of live microorganisms

Введение. Современная стратегия развития птицеводства в России предполагает значительное увеличение объема отечественного производства кормов, повышение их качества, сбалансированности и содержания белка, внедрение новых эффективных технологий [1,2].

Применяемые в настоящее время в хозяйствах методы кормления птицы не всегда позволяют в полной мере сбалансировать рационы по важнейшим показателям энергии, протеину, минералам и витаминам, вследствие чего генетически заложенный потенциал продуктивности птицы используется только на 50-60 %. Кроме того, недостаточное использование научного потенциала, кустарное производство комбикормов с целью их удешевления приводит к низкому качеству, несбалансированности, недостатку белка, значительному перерасходу кормов и высоким издержкам производства [3].

В то же время имеется реальная возможность достаточно быстро организовать производство современных кормовых белковых продуктов, используя имеющийся потенциал в виде вторичных сырьевых ресурсов и отходов производства в перерабатывающих отраслях промышленности: спиртовой, пивоваренной, крахмальной, мукомольной и других. Предприятия этих отраслей промышленности стабильно работают, а выработка из отходов и вторичных сырьевых ресурсов дополнительной товарной продукции повысит эффективность использования сельскохозяйственного сырья в основном производстве, позволит улучшить инфраструктуру производства и одновременно решить экологические проблемы [4-7].

Объекты и методы исследований. Объектами исследований служили: селекционированные штаммы-продуценты органических кислот из коллекций культур ВНИИПБТ, ВКМ, цельная зерновая барда.

В работе использованы как общепринятые физико-химические, биохимические, микробиологические и спектрофотометрические методы анализа, так и современные инструментальные методы ВЭЖХ, тонкослойной хроматографии, электронной микроскопии с использованием современного оборудования и приборов.

Образование органических кислот и их концентрацию определяли методом ВЭЖХ на приборе (Series-200, «Perkin Elmer», США). Макро- и микроэлементный состав кормовых добавок исследовали методами капиллярного электрофореза («PrinCE 560»). Анализ содержания аминокислот проводили по методу Мура и Штейна на аминокислотном анализаторе LC 200 фирмы «Biotronik» (Германия); содержание белка - на автоматической установке Vadorpest 10 (Gerhardt, Германия) с использованием титратора DL15 (Mettler Toledo, Швейцария).

Для определения содержания бактериоцинов использовали методы тонкослойной хроматографии и спектрометрию.

Для количественной оценки концентрации бактериоциноподобных веществ, выделяемых в КЖ, проводили измерения оптической плотности при различных длинах волн, при этом в качестве контроля использовали препарат низаплина.

Антимикробные свойства культуральных жидкостей определяли методом лунок с использованием тест-культур.

В кормовой добавке определяли: содержание сырого жира по ГОСТ 32905-2014; содержание аминокислот по ГОСТ 32195-2013; подсчет количества мезофильных молочнокислых микроорганизмов по ГОСТ 10444.11-2013; определение массовой доли азота и вычисление массовой доли сырого протеина по ГОСТ 32044.1-2012; определение содержания сухого вещества по ГОСТ 31640-2012; определение содержания влаги по ГОСТ Р 54951-2012; определение содержания сырой клетчатки по ГОСТ ISO 6865-2015.

Обработку результатов биотехнологических экспериментов (с числом повторов ≥ 3) проводили статистическим методом анализа и обработки данных.

Обсуждение результатов. С целью создания кормовых и пищевых добавок профилактического действия проведены селекционные исследования и осуществлен скрининг микроорганизмов-продуцентов БАВ с учетом основных критериев к отбору продуцентов: скорости их роста и ферментации, уровня синтеза органических кислот и бактериоцинов.

Скрининг селекционированных штаммов проводился путем многократных (не менее 35-45) пересевов клеток исходных штаммов на плотные агаризованные питательные среды с отбором колоний.

В результате длительной целенаправленной ступенчатой селекции бактерий на средах с повышенными концентрациями органических кислот на основе отобранных штаммов осуществили скрининг новых активных вариантов, которые показали более высокую скорость кислотообразования, стабильно высокий выход органических кислот и бактериоцинов.

Отобранные штаммы были изучены по культурально-морфологическим, физиологическим, биохимическим и цитологическим признакам.

Результаты биосинтетической способности отобранных штаммов в отношении органических кислот и бактериоцинов приведены в табл. 1.

Штаммы *L. acidophilus* ВКМ 1660/08; *L. plantarum* ВКМ 578/26; *L. plantarum* 314; *L. casei* ВКМ 536; *Propionibacterium freudenreichii* subsp. *shermanii* ВКМ В-103/27 отобраны в банк перспективных штаммов для дальнейших исследований и охарактеризованы по кислотообразующей активности и стабильности сохранения свойств.

Таблица 1 – Биосинтетические свойства селекционированных штаммов бактерий

Культура	Выход органических кислот от использованного субстрата, %	Количество бактериоцинов, мг/л
<i>Lactobacillus acidophilus</i> 1660/08	85,0	12,41
<i>Lactobacillus casei</i> BKM 536	72,0	7,00
<i>Lactobacillus plantarum</i> 314	84,0	10,22
<i>Lactobacillus plantarum</i> 578/26	85,3	11,27
<i>Pr. freudenreichii</i> subsp. <i>shermanii</i> B-103/27	55,2	9,70

Последующее изучение культурально-морфологических и физиолого-биохимических свойств селекционированных штаммов бактерий достоверно показало, что все селекционированные штаммы могут усваивать широкий спектр углеводов и накапливать кислоты с высоким выходом от потребленных субстратов (до 96-98 %). Кроме того, определение молочной кислоты с помощью ферментов L- и D-лактатдегидрогеназ показало, что культура *Lactobacillus acidophilus* экскретирует в основном кислоту L-формы (оптическая чистота – 98 %) и это выгодно отличает ее от других продуцентов.

Сконструирован консорциум микроорганизмов *L. acidophilus* BKM 1660/08 + *Propionibacterium freudenreichii* subsp. *shermanii* BKM B-103/27 для технологии получения кормовой добавки, проведено изучение его антимикробных свойств на тест-культурах.

Результаты приведены в табл. 2.

Таблица 2 - Антимикробный спектр действия штамма *L. acidophilus* 1660/08 и консорциума *L. acidophilus* 1660/08 + *Pr. freudenreichii* subsp. *shermanii* B-103/27

Тест культуры	Зоны угнетения роста, мм		
	<i>L. acidophilus</i> (фильтрат)	<i>L. acidophilus</i> (КЖ с биомассой)	<i>L. acidophilus</i> + <i>Pr. freudenreichii</i> subsp. <i>shermanii</i> (фильтрат)
<i>Bacillus lichinoformis</i>	15,0±1,0	20,0±1,0	30,0±1,0
<i>B. mesentericus</i>	22,5±1,0	25,0±1,0	26,2±1,0
<i>B. sporoginosis</i>	16,0±1,0	20,0±1,0	28,0±1,0
<i>Bacillus subtilis</i>	25,0±1,0	25,0±1,0	26,0±1,0
<i>Escherichia coli</i>	25,0±1,0	25,0±1,0	27,5±1,0
<i>Klebsiella pneumonia</i>	23,5±1,0	26,0±1,0	29,0±1,0
<i>Mycobacterium smegmatis</i>	24,0±1,0	27,7±1,0	31,0±1,0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	24,0±1,0	25,5±1,0	30,0±1,0
<i>Proteus vulgaris</i>	23,5±1,0	24,0±1,0	27,0±1,0
<i>Salmonella taphimurium</i>	25,0±1,0	26,5±1,0	28,7±1,0
<i>Shigella flexneri</i>	25,0±1,0	27,5±1,0	28,0±1,0
<i>Staphylococcus aureus</i>	19,8±1,0	22,0±1,0	24,0±1,0
<i>Candida utilis</i>	15,0±1,0	16,5±1,0	18,0±1,0
<i>Aspergillus niger</i>	10,0±1,0	20,0±1,0	25,0±1,0

Установлено, что вещества, выделяемые клетками культур *L. acidophilus* 1660/08 и *Pr. freudenreichii* subsp. *shermanii* B-103/27 в культуральную жидкость, обладают выраженными антимикробными свойствами, особенно в отношении бактериальных форм мик-

роорганизмов, а также интенсивно угнетают рост дрожжей и плесневых грибов. При этом выявлено, что препарат из культуральной жидкости с биомассой *Lactobacillus acidophilus* 1660/08 действовал эффективнее, чем препарат из фильтрата.

Препарат фильтрата культуральной жидкости, полученный при совместном культивировании культур *L. acidophilus* 1660/08 и *Pr. freudenreichii* subsp. *shermanii* B-103/27 в 1,3-2,0 раза был эффективнее, чем препарат из культуральной жидкости с биомассой, полученных после ферментации *L. acidophilus* 1660/08. Это говорит о том, что культуры консорциума экстрацеллюлярно выделяют в среду при своем росте отличные друг от друга бактерицидные комплексы, которые при совместном использовании против нежелательной микрофлоры действуют синергически.

Установлена высокая эффективность культуральных жидкостей консорциумов в отношении тест-культур, вызывающих нарушения работы желудочно-кишечного тракта животных, а также в отношении микроорганизмов, вызывающих микробную порчу кормов.

На основании проведенных фундаментальных исследований разработана и реализована в промышленном масштабе современная технология производства белковой кормовой добавки «Биобардин» на основе послеспиртовой барды, защищенная патентами Российской Федерации. Добавка характеризуется высоким содержанием белка (40-45 %), аминокислот, витаминов, микроэлементов и др. полезных веществ. Этот кормовой продукт содержит комплексы метаболитов, ферментов, бактериоцинов, консорциум живых микроорганизмов, обеспечивающих пробиотические и защитно-профилактические свойства продукта.

Сущность технологии состоит в том, что послеспиртовая барда инокулируется консорциумом бактерий и путем его направленного культивирования получают комплексные кормовую добавку.

Подбором консорциума микроорганизмов, разработкой оптимальных параметров режима ферментации и последующей обработки достигается высокий выход биологически активных веществ, сохранение биологически ценных компонентов, метаболитов, обладающих защитно-профилактическими и антимикробными свойствами, а также стабильность целевого продукта. Для получаемого фильтрата имеется несколько путей его использования и превращения в товарный продукт, в зависимости от инфраструктуры производства [3].

Полноценность получаемого кормового продукта обусловлена, кроме содержания белков и аминокислот, содержанием важнейших микро- и макроэлементов, витаминов. Штаммы в процессе ферментации образуют биологически активные вещества, ферментные системы, продукты метаболизма, которые включаются в регулирование обменных процессов в организме животных, положительно влияют на иммунную систему, препятствуют росту и развитию микроорганизмов, вызывающих заболевания желудочно-кишечного тракта (сальмонеллез, дисбактериоз, микоз и микотоксикоз и другие), предотвращают образование токсинов.

Особенно важную роль играет синтезирование продуцентом витамина В₁₂, который повышает усвоение корма и перевариваемость, а также стимулирует рост и привес молодняка сельскохозяйственных животных и птицы, позволяет им развиваться при отсутствии или недостаточности белков животного происхождения, повышает яйценоскость [8,9].

Химический и аминокислотный состав кормовой добавки «Биобардин» по сравнению с некоторыми белковыми кормами представлен в табл. 3.

Как видно из табл. 3, «Биобардин» по составу близок к основным источникам кормового белка, а по некоторым показателям их превосходит.

Кормовой белковый продукт «Биобардин» производится в течение ряда лет. Использование его для обогащения и балансирования рационов кормления птицы по белку и для

частичной замены в них соевого и подсолнечного шротов рекомендовано методической комиссией ФГУ «ВГНКИ» и Департаментом ветеринарии РФ.

Таблица 3 – Химический состав и питательная ценность белковых кормов

Показатель	Подсолнечный шрот	Соевый шрот	Кормовые дрожжи	Рыбная мука	Биобардин
Сырой протеин %	38	45	45	60	45
Клетчатка %	15	7	1,5	1	8,0
Сырой жир %	1,5	7	1,5	1	8,0
Лизин, %	1,2	2,7	1,5	7,4	1,2
Метионин, %	0,68	0,61	0,54	1,7	0,8
Мет.+ цистин %	1,2	1,26	1,14	2,43	1,3
Триптофан, %	0,45	0,59	0,62	0,60	0,60
Фосфор %	0,9	0,63	1,32	3,5	0,60
В ₁ , мг/кг	3,2	3,1	16	1	3,3
В ₂ , мг/кг	3,1	3,8	40	11	7,7
В ₆ , мг/кг	11	5	30	4	8,2
Обменная энергия, ккал/кг	2670	2500	2800	2840	3200
Переваримость белка %	86	90	89	89	92

Организация такого производства имеет инвестиционную привлекательность, преимуществом является также использование отечественного оборудования. Размещение оборудования возможно в быстровозводимых зданиях. В данном случае создана сквозная технология, т.е. высокотехнологичный комплекс полного цикла по переработке сельскохозяйственного сырья с более эффективной выработкой целевого продукта (спирта), производством кормового белкового продукта из отходов спиртового производства и использованием его в птицеводстве для производства важнейшей продукции – мяса птицы и яиц.

Нормативная документация на кормовую белковую смесь «Биобардин» согласована и утверждена в установленном порядке. Инструкция по применению препарата согласована с Федеральной службой по ветеринарному и фитосанитарному надзору.

Исследования по его использованию при кормлении птиц проводились с привлечением соответствующих институтов сельскохозяйственного профиля, непосредственно в птицеводческих хозяйствах и частных подворьях. По результатам опытных кормлений была отмечена почти полная сохранность молодняка, быстрое развитие и прибавление веса, хорошее физическое состояние, отсутствие заболеваний, хорошая поедаемость корма. Кормовая белковая смесь не оказала отрицательного влияния на биохимические показатели крови, они находились в пределах физиологической нормы.

Работы по испытанию «Биобардина» продолжаются на ряде откормочных предприятий Рязанской области под контролем и общим руководством Управления сельского хозяйства Рязанской области.

По данным ВНИИТИП, при скармливании в течение шести месяцев «Биобардина» в полнорационных комбикормах кур-несушек в оптимальном количестве 4 % вместо под-

солнечного шрота было отмечено повышение интенсивности яйценоскости на 8,4 %, количества яиц на 7,9 % больше при более низкой затрате кормов на 2,7 % по сравнению с контролем. При этом переваримость и доступность всех питательных веществ кормов была выше в рационах с «Биобардином». Кроме того, установлено, что применение «Биобардина» увеличивает накопление в яйцах витаминов А, Е, В₂ и каротиноидов на 20-40 %.

При использовании «Биобардина» в полнорационных комбикормах для цыплят-бройлеров в количестве 3 и 6 % вместо соевого жмыха показано, что получение живой массы опытного молодняка различного возраста превышало контрольную группу на 3-3,1 %, при потреблении корма на 2,6 % меньше. При этом ввод «Биобардина» обеспечивает высокое содержание протеина в ножных мышцах, что является хорошим показателем качества мяса.

Выводы. Кормовая белковая смесь «Биобардин» может служить основой белковых компонентов для комбикормов, премиксов, кормовых добавок и по своему химическому составу и питательной ценности выгодно отличается от других кормовых белковых продуктов.

Литература

1. Маринченко, Т.Е. Состояние и тенденции в птицеводстве ЕС. / Т.Е. Маринченко // В сборнике: Инновационное обеспечение яичного и мясного птицеводства России Материалы XVIII Международной конференции «Всемирная научная ассоциация по птицеводству» (ВНАП) Российское отделение НП «Научный центр по птицеводству». 2015. - С. 546-551;
2. Воробьева, Г.И. Новые виды микробиологической белковой продукции на отходах сельского хозяйства, пищевой и деревообрабатывающей промышленности / Г.И. Воробьева, А.И. Заикина, А.Е. Сычев, И.А. Буторова, Ю.В. Ковальский, Ц.С. Гарибян // В книге: Биотехнология: состояние и перспективы развития. Материалы IX международного конгресса, Москва. - 2017. - С. 361-362;
3. Римарева, Л.В. Обогащенные белковые кормовые продукты на основе поспиртовой барды. / Л.В. Римарева, Г.С. Волкова, Е.В. Куксова // Тез. доклада Московский международный конгресс «Биотехнология: состояние и перспективы развития», г. Москва. – 2010. - С.275-276;
4. Ушакова, Н.А. Новое поколение пробиотических препаратов кормового назначения / Н.А. Ушакова, Р.В. Некрасов, В.Г. Правдин, Л.З. Кравцова, О.И. Бобровская, Д.С. Павлов // Фундаментальные исследования. – 2012. – № 1. – С. 184-192;
5. Самуйленко, А.Я. Симбиотические препараты в животноводстве / А.Я. Самуйленко, И.В. Павленко, В.И. Еремец, Л.Б. Соловьев, И.В. Бобровская, В.А. Гаврилов // Ветеринария и кормление. – 2014. – №6. – С.23-24;
6. Салеева, И.П. Новые пробиотические комплексы (препараты) и их применение при выращивании бройлеров/ И.П. Салеева, А.В. Иванов, И.В. Павленко, Е.Э. Школьников, Л.А. Неминая, Т.А. Скотникова, В.И. Еремец // Птицеводство. – 2014. – № 12. – С .29-33.
7. Гулюшин, С.И. Использование пробиотической добавки «АІВІ» серии LcB 24.01 для стимуляции цыплят-бройлеров / С.И. Гулюшин, И.А. Викторов /. Сборник научных трудов ВНИТИП, Сергиев Посад, Том 87. – 2014. – С.99-104;
8. Лаптев, Г.Ю. Выбор кормовых добавок на основе метагеномных исследований микрофлоры кишечника птицы / Г.Ю. Лаптев, И.Н. Никонов, Л.А. Ильина, Е.А. Ёылдырым / Материалы XVIII Международной конференции "Инновационное обеспечение яичного и мясного птицеводства России". Сергиев-Посад. – 2015. – С.74-79;
9. Ноздрин, Г.А. Пробиотики и микронутриенты при интенсивном выращивании цыплят кросса Смена / Г.А. Ноздрин, А.Б. Иванова, А.И. Шевченко // Новосибирск: НГАУ. –2009. – С.207-212.