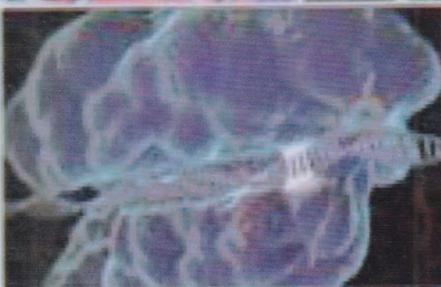
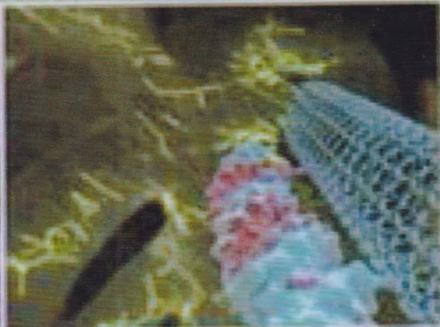


Иванова Е.П., Скалозуб О.М.

БИОТЕХНОЛОГИЯ КОРМОВ



Федеральное государственное
высшего проф
Компания Приморская Государственная

Институт земледелия и природообустройства

Иванова Е.П., Скалозуб О.М.

Биотехнология кормов

Учебное пособие для обучающихся направлений подготовки 35.03.03 Агрохимия и агропочвоведение, 35.03.07 Технология производства и переработки сельскохозяйственной продукции, 35.03.04 Агрономия

ФГБОУ ВПО Приморская ГСХА

Электронное издание

Уссурийск 2015

УДК 633.2: 663.15

ББК 42.2: 30.16

Б 63

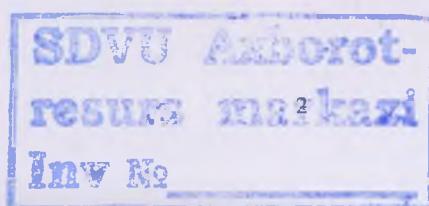
Рецензенты: О.Н. Теличко, научный сотрудник отдела кормопроизводства ФГБНУ «Приморский НИИСХ» Россельхозакадемии; Т.В. Наумова, канд. с.-х. наук, доцент кафедры землеустройства

Биотехнология кормов: учебное пособие для обучающихся направлении подготовки 35.03.03 Агрохимия и агропочвоведение, 35.03.07 Технология производства и переработки сельскохозяйственной продукции, 35.03.0 Агрономия ФГБОУ ВПО Приморская ГСХА / ФГБОУ ВПО ПГСХА [Электронный ресурс]; сост. Е.П. Иванова, О.М. Скалозуб. – Электрон. текст. дан. - Уссурийск, 2015. – 92с. – Режим доступа:www.de.primacad.ru

Учебное пособие «Биотехнология кормов» представляет собой учебное издание, предназначенное для реализации требований к уровню подготовки и методике освоения знаний, направленное на развитие навыков самостоятельной работы обучающихся и способствующее более успешному освоению профессиональных компетенций. Основной целью учебного пособия является расширение, углубление знаний обучающихся и лучшее освоение дисциплины «Биотехнология кормов».

Учебное пособие включает 8 тем, состоящих из теоретического материала, практических работ и заданий для самостоятельной работы.

Издается по решению методического совета ФГБОУ ВПО Приморская ГСХА



СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	5
Тема 1 ВВЕДЕНИЕ В ДИСЦИПЛИНУ. ПРОИЗВОДСТВО КОРМОВОГО БЕЛКА	7
Значение биотехнологии для кормопроизводства.....	7
Нетрадиционные источники кормового белка.....	8
Сыревая база для синтеза комового белка.....	10
Принципиальная технологическая схема выращивания кормовой биомассы 13	
Практическая работа. Физико-химическая характеристика кормовых дрожжей	15
Тема 2. БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ ПРИЕМЫ В ПРОИЗВОДСТВЕ СИЛОСА	18
Технология, преимущества и способы силосования кормов.....	18
Микрофлора силоса	20
Химическое силосование сочных кормов	23
Ферментные препараты и бактериальные закваски для силосования кормов 25	
Практическая работа. Физико-химическая характеристика силоса.....	25
Тема 3. БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ ПРИЕМЫ В ПРОИЗВОДСТВЕ СЕНАЖА.....	31
Технология и преимущества сенажирования кормов	31
Микробиологические и биохимические процессы при сенажировании	33
Практическая работа. Количественное определение молочной кислоты в сенаже	34
ТЕМА 4. ПРОТЕИНИЗИРОВАННЫЕ КОРМА, КРАХМАЛО-ПРОДУКТЫ.....	38

.....	Способы увеличения количества протеина в растительных кормах	38
.....	Технологический процесс получения белково-ферментного препарата.	41
Тема 5. МОДИФИКАЦИЯ СОКА ЗЕЛЕНЫХ РАСТЕНИЙ.....		42
Общая характеристика		42
Технология ферментации растительного сока.....		42
Практическая работа. Стабилизация жидких протеиновых продуктов химическими консервантами		43
Тема 6. КОРМОВЫЕ ДОБАВКИ БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКОГО ГЕНЕЗА		46
6. 1 Кормовые препараты аминокислот		46
Ферментные препараты		48
Витамины		51
Пробиотики.....		53
Практическая работа. Исследование химического состава кормовых добавок. Качественные реакции на витамины		56
Тема 7. БИОКОНВЕРСИЯ ВТОРИЧНЫХ ПРОДУКТОВ В КОРМОПРОИЗВОДСТВЕ		59
Утилизация органических субстратов и навоза животноводческих комплексов (продукты вермикультуры, опарышей, простейших и других организмов).		59
Использование отходов производств в кормлении животных		67
Тема 8. БИОЛОГИЧЕСКИЕ СПОСОБЫ ПОВЫШЕНИЯ УРОЖАЙНОСТИ КОРМОВЫХ КУЛЬТУР		78
Бактериальные удобрения.....		78
Гормоны растений (фитогормоны)		82
Биологические способы защиты растений		84
Фиторегуляторы		87
Список литературы		90

ВВЕДЕНИЕ

Последние десятилетия развития биоиндустрии отмечены выдающимися достижениями в биотехнологии, которая является междисциплинарной областью знаний, базирующейся на микробиологии, биохимии, молекулярной биологии, биоорганической химии, биофизике, вирусологии, имmunологии, генетике, инженерных науках и электронике. Развитие биотехнологии позволяет существенно интенсифицировать производство, повышать эффективность использования природных ресурсов, решать экологические проблемы, создавать новые источники энергии. Возможности биотехнологии направляются на решение мировых проблем, связанных с восполнением дефицита белка и энергии, предотвращением опасных заболеваний, охраной окружающей среды.

XXI век – век стремительного развития новых прогрессивных биотехнологий, знание которых становится неотъемлемой частью средств управления и деловой активности, формирования нового образа жизни. Поэтому необходимо решать экологические проблемы, создавать новые источники энергии, продукты питания человека и кормление сельскохозяйственных животных.

Одна из особенностей биотехнологии состоит в том, что она использует технологии производства продуктов на ранних этапах развития микробиологического синтеза. Сегодня биотехнология играет все более возрастающую роль в агропромышленном комплексе в целом и животноводстве в частности. Биотехнология в животноводстве включает диагностику, профилактику и лечение заболеваний с использованием техник – моноклональных антител; генетическое улучшение пород животных. Биотехнологические методы используются для искусственного осеменения.

Биотехнология в кормопроизводстве применяется для силосования кормов, что повышает усвоение растительной биомассы; для утилизации отходов животноводческих ферм; для получения экологически чисты

органических удобрения на основе переработки отходов растениеводства и животноводства и пр. Некоторые вещества, полученные с помостью микроорганизмов, могут использоваться в виде кормовых добавок, другие – подавляют вредную микрофлору в желудочно-кишечном тракте или стимулируют образование специфических микробных метаболитов.

Биотехнология – это совокупность промышленных методов, в которых используют живые организмы и биологические процессы для производства различных продуктов.

Кормление сельскохозяйственных животных должно обеспечить максимальную, генетически обусловленную продуктивность при сохранении их здоровья и воспроизводительной функции.

В настоящее время в кормлении животных используют более 500 видов различных кормов и кормовых добавок: отходы маслоэкстракционной и пищевой промышленности; продукты микробиологического синтеза; соли макро- и микроэлементов; препараты витаминов, ферментов, аминокислот, антибиотиков, транквилизаторов, сорбентов, антиокислителей, вкусовых средств и др.

Учебное пособие по дисциплине «Биотехнология кормов» раскрывает основные направления биотехнологии кормов. Направлено на формирование у обучающихся навыков выбора биотехнологических методов, приемов и средств организации и ведения современного кормопроизводства, в том числе и для более рационального использования кормов, повышения качества кормов и продуктивности сельскохозяйственных животных.

Тема 1. ВВЕДЕНИЕ В ДИСЦИПЛИНУ. ПРОИЗВОДСТВО КОРМОВОГО БЕЛКА

Значение биотехнологии для кормопроизводства

Биотехнология – это совокупность промышленных методов, в которых используют живые организмы и биологические процессы для производства различных продуктов.

Кормление сельскохозяйственных животных должно обеспечить максимальную, генетически обусловленную продуктивность при сохранении их здоровья и воспроизводительной функции.

В настоящее время в кормлении животных используют более 500 видов различных кормов и кормовых добавок: отходы маслозэкстракционной и пищевой промышленности; продукты микробиологического синтеза; соли макро- и микроэлементов; препараты витаминов, ферментов, аминокислот, антибиотиков, транкилизаторов, сорбентов, антиокислителей, вкусовые средства и др.

По источникам получения все корма подразделяют на корм растительного происхождения, корма животного происхождения, минеральные корма, продукты микробиологического происхождения, продукты пищевой промышленности, продукты химического синтеза.

Так, например, урожайность сельскохозяйственных растений, в т.ч. кормовых, зависит от погодных и климатических условий, состояния почвы, наличия сорняков, грызунов, действия насекомых-вредителей, немато-фитопатогенных грибов, бактерий, вирусов и др.

Биотехнология открывает новую сферу деятельности в области кормопроизводства:

- выведение сортов растений, устойчивых к неблагоприятным факторам;
- разработка химических средств борьбы с сорняками, грызунами, фитопатогенными грибами, бактериями и вирусами;
- разработка биотехнологических средств борьбы с вредителями;

- получение бактериальных удобрений;
- разработка микробиологических методов рекультивации почв;
- получение трансгенных растений;
- создание кормовых препаратов из растительной, микробной биомассы и отходов сельского хозяйства;
- переработка отходов и побочных продуктов растениеводства.

Нетрадиционные источники кормового белка

При дефиците белка в рационе в организме животных развиваются глубокие негативные изменения: отрицательный азотистый баланс, гипопротеинемия, нарушения коллоидно-осмотического и водно-солевого обмена, анемии различной формы, нарушения со стороны нервной, эндокринной и сердечно-сосудистой системы, сдвиги обмена веществ, остановка роста, истощение и т.д. Особенно тяжелые нарушения развиваются в молодом возрасте. Весьма опасно не только полное отсутствие белка в пище, но и недостаточное поступление его в организм или поступление некачественного белка. Белок корма должен содержать все аминокислоты, особенно незаменимые, быть по составу близок аминокислотному составу белков организма и легко перевариваться в желудочно-кишечном тракте.

Недостаток кормового белка в масштабах планеты по данным ФАО ООН оценивается примерно в 30 млн. т в год. Коренным образом изменить эту ситуацию возможно лишь биотехнологическим путем. Причем, продуcentами кормового белка могут быть бактерии, дрожжи, микроскопические водоросли, микро- и макромицеты.

Преимущества производства биомассы с помощью микробного синтеза (перед другими источниками белка):

- 1) высокая скорость накопления биомассы, которая в 500-5000 раз выше, чем у растений или животных;
- 2) микробные клетки накапливают большое количество белка (дрожжи –

до 60 %, бактерии – до 75 % по массе);

3) в производстве микробного белка отсутствует многостадийность;

4) процесс биосинтеза протекает в мягких условиях при температуре 30-45°C, рН 3-6 и давлении $\approx 0,1$ МПа;

5) процесс менее трудоемок по сравнению с получением сельскохозяйственной продукции и органическим синтезом белков.

Дрожжи. Их легко выращивать в производственных условиях; они быстро растут и размножаются практически на любых субстратах; устойчивы к контаминации микрофлоре; содержат белка больше, чем зерно злаковых культур, несколько уступая лишь по аминокислотному составу протеинам молока и рыбной муки; богаты витаминами (тиамин, рибофлавин, пантотеновая кислота, никотиновая кислота, пиридоксин, фолиевая кислота, а также холин, инозит и др.); содержат микроэлементы и значительное количество жира,

котором преобладают ненасыщенные жирные кислоты. Так, 1 кг кормовых дрожжей содержит 1,03-1,16 кормовых единиц. К недостаткам дрожжей относят толстую клеточную стенку и большое количество нуклеиновых кислот.

Бактерии. Для них характерна высокая скорость роста; содержание белка в биомассе составляет 70 - 80 % при значительном количестве метионина; они легко поддаются селекции, что позволяет получать высокопродуктивные штаммы. Их недостатками являются трудная осаждаемость, вследствие малых размеров клеток; значительная чувствительность к инфекциям, особенно фаговым; высокое содержание в биомассе нуклеиновых кислот.

Водоросли. Микроскопические водоросли как фототрофы для образования своей биомассы используют только углекислый газ атмосферы. Так, с 0,1 га поверхности прудов можно получить столько же белка, сколько с 14 га посевов фасоли.

В настоящее время особое внимание привлекает сине-зеленая водоросль спирулина (*Spirulina platensis* и *Spirulina maxima*). Биомасса её соответствует лучшим стандартам пищевого белка, в ней достаточно витаминов A, D, а также группы В. В качестве кормовых добавок применяют также препарат спирусти-

изготавливаемый из одноклеточных сине-зеленых водорослей *Spirulina platensis*, хлореллу.

Новой добавкой к рациону является гипергалинная аквакультура (ГАК) Сиваша, которая включает микроводоросли, продукты их переработки, а также чисты, яйца, личинки, куколки и взрослые формы гидробионтов и галофильных насекомых, которые обитают в акватории высокой солености.

Грибы. Важным источником высококачественного белка могут быть как низшие, так и высшие грибы. Высокая питательная ценность плодовых тел высших грибов известна давно. Однако их валовой сбор в природных условиях, естественно, не может удовлетворить все возрастающие потребности в белке. Поэтому были сделаны попытки культивирования в промышленных условиях мицелия макромицетов. Благодаря микромицетам крахмалсодержащая пища обогащается белком и становится подобной мясным продуктам. Однако, по сравнению с эталонным белком, белки грибов лимитированы по сумме аминокислот, содержащих серу (цистеин и метионин). Вместе с тем они богаты лизином – основной аминокислотой, недостающей в белке зерновых культур. Это позволяет на основе зерна и грибной биомассы составлять сбалансированные кормовые смеси.

Сырьевая база для синтеза комового белка

Сырьевые источники для синтеза микробного белка весьма значительны и легкодоступны. Для получения микробного белка необходим богатый углеродом, но дешевый субстрат.

Парафины нефти (n-парафины). Высокий выход биомассы (до 100 % от массы субстрата) обеспечивается большим содержанием углерода, а качество продукта – степенью чистоты парафинов. Если парафины очищены недостаточно, то дрожжевая биомасса содержит не метаболизируемые компоненты: производные бензола, D-аминокислоты, липиды с нечетным числом углеродных атомов в жирных кислотах, токсины белковой природы.

Поэтому парафины нефти должны быть тщательно очищены.

Дрожжи, выращенные на н-парафинах, используются в количестве 8-15 % от общего белка рациона для откорма крупного рогатого скота, свиней, овец и бройлеров.

Метанол. Его получают методом микробного синтеза из древесины соломы, городских отходов. Сложность использования метанола заключается в том, что молекула его содержит только один атом углерода, тогда как синтез большинства органических соединений осуществляется через двух углеродные молекулы. Соединения же с нечетным числом атомов углерода, как правило, небезразличны для организма. В качестве продуцента используются бактерии рода *Methylomonas*.

Метанол усваивают бактерии, дрожжи, грибы, актиномицеты. Получение белка на метаноле более экономично, чем при использовании н-парафина. Например, продукт «Прутин» (Англия), содержащий 72 % сырого протеина используется как высокобелковая добавка к комбикормам в рационах свиней, птицы, пушных зверей и в качестве заменителя молока для телят.

Этанол. Использование этанола как субстрата для микробного синтеза белка снимает проблему очистки биомассы от аномальных продуктов обмена нечетным числом углеродных атомов. Стоимость производства этанола несколько выше, чем метанола. Разработаны технологические процессы получения белка на природном газе с использованием бактерий *Methylomonas* усваивающих метан, *Hypomicrobium* и *Pseudomonas*, утилизирующих метанол др.

Растительная биомасса. Содержит большое количество сахара (целлюлоза, состоящая из остатков молекулы глюкозы; гемицеллюлоз состоящие из остатков арабинозы, галактозы, маннозы, фруктозы, ксилозы). Для получения кормовых дрожжей используется также послеспиртовая бар, подсолнечная лузга, хлопковая шелуха, отходы производства лубяных волок (костер льна и конопли), свекловичный жом, отходы картофелекрахмально-

производства, пивоваренной, плодовоовощной, консервной промышленности и др. В качестве сырья для гидролизной промышленности используется солома злаковых культур, которая обычно протеинизируется, например, дрожжеванием, или усвояемость соломы повышается действием ферментных препаратов (пектофоетидина Г3х в комплексе с целламиридином Г3х или глюкаваморином Пх). Используются способы прямой биоконверсии растительной биомассы с помощью высших и низших грибов. С этой целью используются целлюлозоразрушающие грибы *Chaetomium cellulolyticum*, а также *Aspergillus niger*, *Trichoderma* и др.

Молочная сыворотка. Ежегодно в мире образуется около 200 млн. т молочной сыворотки. Каждая тонна сыворотки содержит 50 кг молочного сахара, до 10 кг высокоценного белка, 1,5 кг жира, а также витамины, микроэлементы и др. Использование сыворотки малоэффективно как для производства кормов, так и для скармливания животным. Это связано с тем, что степень утилизации молочной сыворотки снижается по мере увеличения её доли в рационе. Кроме того, при этом возникают расстройства пищеварения, а конверсия белка сыворотки в белок тела животного весьма незначительна. Это касается и сухой сыворотки, так как организм животного усваивает только 20% её количества из-за неблагоприятного соотношения углеводов, белков и минеральных солей. Более рациональным является производство молочно-белковых концентратов (на основе белков сыворотки изготавливают заменители сухого обезжиренного молока, кормовые добавки и др.).

Лактоза может быть источником энергии для многих видов микроорганизмов, сырьем для микробного производства белковой биомассы. Для ее получения чаще всего используют дрожжи. Установлено, что коэффициент конверсии белка сыворотки в микробный белок у дрожжей в 20 раз выше, чем степень преобразования его в животный белок. Кроме того, большинство видов дрожжей обогащает сыворотку витаминами. В качестве продуцентов применяют различные штаммы родов *Saccharomyces*, *Kluyveromyces fragilis*, *Candida*, *Trichosporon*, *Torulopsis*.

Принципиальная технологическая схема выращивания кормовой биомассы

Чистую культуру в log-стадии переносят в малый посевной аппарат (50 л) с питательной средой, pH которой доводится аммиачной водой и известковым молоком до 5,5-5,8. Сначала в аппарат подают около 40 л среды, разбавляют её в 4-4,5 раза стерильной водой и при интенсивной аэрации добавляют остальное количество питательной среды (80-100 л), pH среды – 4,5-5,5.

Из качалочных колб вносят микробную суспензию объемом 1,5-2 л и производят культивирование до накопления в среде 3,5-4,0 г клеток/л абсолютно сухому веществу (ACB). Обычно для этого требуется 15-18 ч.

Суспензия из малого посевного аппарата подается в аппарат объемом 4 м³, предварительно заполненный питательной средой (\approx 200 л) и стерильной водой (1,2-1,5 м³), включается аэрация и при постоянном доливе (70-75 л/ч) питательной среды и добавления аммиачной воды для поддержания заданного pH проводится культивирование 10-12 ч.

Выращивание засевной культуры проводится в ферментаторе объемом 15-20 м³. Аппарат на 10 % по объему заполняется стерильной или кипяченой водой, туда же вводится около 0,5 м³ питательной среды и полностью перекачивается все содержимое предыдущего аппарата (2,5-2,7 м³). Выращивание посевного материала без отбора суспензии продолжается 1 час при интенсивной аэрации и постоянном доливе питательной среды (170-200 л/ч) до накопления в ферментере биомассы в количестве 4-5 г ACE. После этого засевную культуру начинают отбирать на основное производство в количестве 1,3-1,7 м³/ч при одновременном доливе питательной среды.

Процесс ферментации длится от 5 до 10 суток, а затем цикл приготовления посевного материала возобновляется.

К подготовительным стадиям производства относится приготовление растворов питательных солей и микроэлементов, необходимых для

нормального развития микроорганизмов. Этот участок имеет свою технологическую схему.

Минеральные компоненты группируют в два раствора, которые параллельно подаются в основной ферментатор: раствор всех микроэлементов (N, P, K), необходимое количество которых составляет 5-70 г/л; раствор микроэлементов (Mg, Mn, Fe, Zn и др.), концентрации которых не превышают 5-10 мг/л.

Технологические потоки из всех подготовительных отделений (компримирование воздуха, хранение и подготовка сырья, получение засевной культуры, приготовление растворов питательных солей и микроэлементов, технологическая вода, аммиачная вода, стерильная культуральная жидкость) поступают на главную стадию производства – стадию ферментации.

Основным аппаратом в этом отделении является ферментатор – аппарат полного смешения по жидкой фазе, обеспечивающий рост и развитие популяций микроорганизмов в объеме жидкой фазы; транспорт питательных веществ к клеткам микроорганизмов; отвод от микробных клеток продуктов их обмена; отвод из среды тепла.

Затем следуют другие этапы технологической схемы получения кормовой биомассы:

– Сгущение суспензии микроорганизмов. При этом концентрация биомассы повышается до 12-16 % АСВ. Для этого используют сепараторы, а также флокуляцию, коагуляцию, флотацию или декантацию.

– Термообработка суспензии. При нагревании микроорганизмов до температуры 75-85 °C в течение 10-40 мин происходит гибель штамма-продуцента и практически всей сопутствующей микрофлоры.

– Концентрирование суспензии. Проводят в отделении выпаривания до концентрации 23-25 % АСВ. Для этого используется трехкорпусная вакуум-выпарная установка: I корпус – 90 °C, II – 75 и III – 60 °C.

– Сушка. В этом отделении происходит образование готового продукта с влажностью ≈ 10 % (по массе). Для этого используются конвективные сушилки

(распылительные, кипящего слоя, ленточные и барабанные).

– Грануляция и сушка. Обычно сухая биомасса, содержащая 8-10 % (по массе) влаги представляет собой готовый продукт и после упаковки направляется на склад к потребителю. Если продукт необходимо получить виде гранул, то сухая и влажная (после выпарки) биомасса в соотношении 1:1 поступает в гранулятор. При этом влажная биомасса налипает на сухие частицы и вся масса влажностью 45-50 % движется в аппарате, формируя гранулы остаточной влажности 8-10 % (по массе) горячим воздухом или топочными газами с температурой 260-300 °C;

– Фасовка и упаковка готового продукта. Сухая биомасса поступает в приемный бункер и фасуется в бумажные мешки с клапаном массой 25-30 г. Эти мешки укладываются на специальные поддоны, которые отвозят их на склад или отгружают потребителю.

Практическая работа

Физико-химическая характеристика кормовых дрожжей

ЦЕЛЬ: сформировать навык проведения физико-химического анализа кормовых дрожжей.

Оборудование:

1. Бумажные пакеты.
2. Ступки.
3. Пестики.
4. Бюретка.
5. Технические весы.
6. Стаканы.
7. Фарфоровые тигли.
8. Термостат.
9. Муфельная печь.

Реактивы:

1. 1% спиртовой раствор фенолфталеина.
2. 0,1 н раствор гидроксида натрия.
3. Концентрированная серная кислота.
4. 40% раствор нейтрализованного формалина.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ КИСЛОТНОСТИ КОРМОВЫХ ДРОЖЖЕЙ

Ход анализа:

Навеску дрожжей (10 г) помещают в фарфоровую ступку и растирают её пестиком, постепенно доливая воду (всего 50 мл). В полученную суспензию добавляют 3-5 капель фенолфталеина и титруют смесь 0,1 н раствором гидроксида натрия до появления слабого розового окрашивания, не исчезающего в течение 1 мин.

Кислотность дрожжей, в пересчете на уксусную кислоту (в мг на 100 г дрожжей), вычисляют по формуле:

$$X = V \times 6 \times K \times 10,$$

где X – кислотность дрожжей в пересчете на уксусную кислоту;

V – количество 0,1 н раствора щелочи, пошедшее на титрование, мл;

6 – количество уксусной кислоты, эквивалентное 1 мл 0,1 н раствора щелочи, мг;

K – поправочный коэффициент 0,1 н раствора гидроксида натрия;

10 – переводной коэффициент.

Обязательно проводят два параллельных определения и вычисляют среднюю величину с точностью до десятой.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ МАССОВОЙ ДОЛИ БЕЛКОВ В КОРМОВЫХ ДРОЖЖАХ МЕТОДОМ ФОРМОЛОВОГО ТИТРОВАНИЯ

Метод заключается в блокировке свободных аминогрупп белков внесенным нейтрализованным формалином (формолом). Свободные карбоксильные группы белков затем нейтрализуются щелочью. Количество щелочи, пошедшее на титрование карбоксильных групп, косвенно отражает

массовую долю белков.

Ход анализа:

10 г дрожжей разводят в 90 мл дистиллированной воды и титруют присутствии фенолфталеина 0,1 н раствором гидроксида натрия до появления слабой розовой окраски. Затем вносят 5 мл 40% нейтрализованного формалина и вновь проводят титрование 0,1н раствором гидроксида натрия до исчезающей слабой розовой окраски. Количество щелочи, пошедшее на второе титрование (при первом титровании оно расходуется на нейтрализацию веществ, обусловливающих кислотность дрожжей), умножают на коэффициент 0,959 и получают массовую долю белков в дрожжах.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Общая биотехнология: методические указания к лабораторным работам / сост.: В.А. Блинов, С.Н. Буршина. – Саратов: «РИК «Полиграфия Поволжья» 2004. – С. 58-60.

Вопросы для самоконтроля:

- 1) Что такое биотехнология?
- 2) Сформулируйте цель и задачи биотехнологии в области кормопроизводства.
- 3) Каковы последствия недостатка или полного отсутствия белка в рационе животного?
- 4) Перечислите преимущества производства биомассы с помощью микробного синтеза.
- 5) Дрожжи и бактерии как нетрадиционные источники белка, их преимущества и недостатки.
- 6) Какие водоросли можно использовать в качестве кормовых добавок?
- 7) Грибы как перспективный источник кормового белка.
- 8) Перечислите сырьевые источники для синтеза микробного белка.
- 9) Парафины нефти как сырье для синтеза микробного белка.
- 10) Спирты как субстрат для микробного синтеза белка.
- 11) Использование растительной биомассы для культивирования

продуцентов белка.

- 12) Молочная сыворотка как сырье для производства белковой биомассы.
- 13) Технология выращивания засевной культуры для получения кормовой биомассы.
- 14) Охарактеризуйте главную стадию (стадию ферментации) и последующие этапы технологической схемы производства кормовой биомассы.

Тема 2. БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ ПРИЕМЫ В ПРОИЗВОДСТВЕ СИЛОСА

Технология, преимущества и способы силосования кормов

Силосование (от испанского *silos* – яма) – это биологический метод консервирования кормов, в основе которого лежит молочнокислое брожение.

Технология силосования:

- 1) скашивание (с провяливанием или без него) и измельчение растений;
- 2) транспортировка зеленой массы к месту силосования;
- 3) укладка в хранилища (траншеи, ямы), разравнивание и уплотнение силосуемой массы;
- 4) плотное укрытие и изоляция силосуемого сырья от воздуха после заполнения хранилища.

Различают силос из кукурузы, силос из однолетних и многолетних растений, комбинированный силос.

Преимущества силосования:

- 1) сочную растительную массу можно силосовать в любую погоду, при этом потери составных частей корма, в том числе и витаминов, значительно ниже, чем, например, при заготовке сена;
- 2) правильно заквашенный корм хорошо поедается животными, в результате чего повышается их продуктивность;
- 3) силосовать можно такие корма (ботва свеклы, картофеля, отходы крахмало-паточного производства), которые часто не используются в

хозяйствах;

4) засыпанный корм можно хранить длительное время, иногда десятилетиями;

5) правильно приготовленный силос имеет хорошие вкусовые качества, возбуждает аппетит и в сбалансированных рационах улучшает использование различных составных частей корма.

Способы силосования кормов:

1) Холодный способ – проходит при температуре (25-35 °C). При этом измельченная силосуемая масса плотно укладывается и хорошо изолируется от воздуха. Холодный способ силосования в нашей стране распространяется повсеместно.

2) Горячий способ – проходит при температуре 50 °C. При этом корм укладывают рыхло и постепенно, что создает условия для более бурного развития микробиологических процессов. При такой технологии происходит потеря больших количеств питательных веществ. Главное консервирующее средство – молочная кислота. Микроорганизмы способны превращать сахара молочную, уксусную, пропионовую и другие кислоты, которые придают корму острый специфический запах. Кроме сахаров в растениях содержатся протеин аминокислоты, минеральные соли, которые нейтрализуют, связывая образовавшиеся кислоты и выполняют роль буферных веществ.

Силосуемость растений определяется сахарным минимумом – это процент сахара в растениях, необходимый для накопления молочной кислоты в количестве, обеспечивающем смещение pH силоса до 4,2 при данной буферности исходного сырья.

При содержании в растениях большого количества сахаров и недостатка протеина силос получается перекисленным и животные его плохо поедают.

Избыточное содержание влаги в силосуемой массе ведет к накоплению большого количества жидкости, и жизнь клеток скошенных растений продлевается, на что используются сахара, крахмал, протеин. Чтобы предотвратить ферментативные процессы, силосуемую массу быстро

закладывают в кормохранилища и изолируют от воздуха.

При несоблюдении правил силосования начинают развиваться микробиологические процессы. Это ведет к повышению температуры, протеины вступают во взаимодействие с сахарами; образуются пахучие вещества – изовалеонановый альдегид (напоминает запах ржаного хлеба), фурфурол (запах яблока), оксиметилфурфурол (запах меда). Такой корм охотно посасывается животными, так как ароматические вещества возбуждают у них аппетит. Однако он беден протеином, каротином и другими питательными веществами, необходимыми для нормальной жизнедеятельности организма животных.

Микрофлора силоса

Молочнокислые бактерии. Возбудителей молочнокислого брожения делят на две группы:

1) гомоферментативные – образуют из сахаров в основном молочную кислоту;

2) гетероферментативные – кроме молочной образуют уксусную кислоту, диоксид углерода, иногда этиловый спирт. Бактерии группы кишечной палочки – участвуют в гетероферментативном молочно кислом брожении и образуют большое количество газов (*E. coli*). В кормовой массе они встречаются в начале силосования; с накоплением молочной кислоты их численность уменьшается. В результате их жизнедеятельности происходит превращение сахаров в малоценные продукты, что снижает питательность корма.

Аммонификаторы (гнилостные микробы) – всегда имеются на поверхности растений (сенная, картофельная, капустная и другие бациллы, а также эшерихии и протей). Они вызывают энергичное разложение белков в начале процесса силосования, когда pH более 4,5-4,7. При медленном подкислении корма аммонификаторы продолжают усиленно размножаться, накапливаются продукты распада протеина, которые могут вызывать

отравление животных.

Дрожжи могут быть в растительной массе. Они сбраживают сахара и спирта, придают корму приятный запах и вкус, что возбуждает у животных аппетит, продуцируют витамины и другие биологически активные вещества, что способствует развитию микроорганизмов. Однако, дрожжи для своей жизнедеятельности используют сахар, а, следовательно, уменьшают образование молочной кислоты. Некоторые из дрожжей даже разлагают органические кислоты, что тормозит процесс силосования. Обычно дрожжи усиленно размножаются в начале процесса, а затем их численность уменьшается. Плесневые грибы (*Penicillium*, *Aspergillus* и др.) в силосной массе сохраняются недолго. Они хорошо переносят кислую среду, но являются аэробами. При доступе воздуха плесневые грибы энергично размножаются, используют молочную и другие органические кислоты. Это ведет к повышению pH, созданию условий для развития споровых форм микробов маслянокислых и аммонификаторов, в результате чего корм становится непригодным к скармливанию животным.

Маслянокислые бациллы (клюстриции) попадают на растения из почвы. Это – облигатные анаэробы, поэтому при хорошем уплотнении силосуемой массы создаются условия для их развития. Они сбраживают сахара образованием масляной кислоты, диоксида углерода и водорода. Кроме того, могут образовываться уксусная, пропионовая и муравьиная кислоты, а также спирты (этиловый, бутиловый и ацетон). Маслянокислые бациллы способны переводить молочную кислоту в масляную. Она придает горький вкус неприятный запах корму, поэтому он плохо поедается животными. При попадании масляно-кислых бацилл из корма в молоко и молочные продукты (сыры) ухудшается их качество, развиваются процессы, приводящие к порче продуктов.

Маслянокислые бациллы имеют мощный ферментативный аппарат и способны усваивать молекулярный азот из воздуха. При pH 4,7 и ниже маслянокислые бациллы развиваться не могут.

ингибирированием ферментов в скошенных растениях. Химическими консервантами можно регулировать жизнедеятельность микроорганизмов. Так, при силосовании кукурузы, сорго, подсолнечника важно не только подавить гнилостные и масляно-кислые бактерии, но и ограничить развитие молочно-кислых и дрожжевых клеток, так как они вызывают большие потери сахара.

Особенность химического консервирования – значительное уменьшение степени гидролиза белков, углеводов. При этом удается снизить потери питательных веществ в 2-3 раза, а в отдельных случаях – в 4-6 раз, на 15-20 % увеличить выход силюса.

В настоящее время для консервирования зеленых кормов и влажного зерна испытано около 2 тыс. химических соединений. При выборе консерванта учитывают отсутствие у него ядовитых и канцерогенных свойств; стоимость; удобство и безопасность при внесении в силосную массу.

Выпускаются следующие консерванты:

- 1) концентрированная смесь низко молекулярных жирных кислот: содержит не более 35 % воды, 30 % уксусной кислоты, 27-29 % муравьиной, не менее 5 % пропионовой и не более 5 % масляной кислот;
- 2) уксусная кислота;
- 3) бензойная кислота (консервирующее действие проявляется при pH корма 4,5). Она подавляет развитие дрожжей, кишечной палочки и в меньшей степени масляно-кислых и уксусно-кислых бактерий;
- 4) пиросульфат натрия;
- 5) бисульфат натрия – действует на гнилостные бактерии и очень слабо – на молочно кислые; при этом в силюсе улучшается соотношение органических кислот.

Ферментные препараты и бактериальные закваски для силосования кормов

Современным биотехнологическим приемом стабилизации и биоконверсии кормов является применение ферментных препаратов микробного или грибного происхождения.

В настоящее время используется множество ферментов, например, пектаваморин П10Х, амилоризин П10Х, амилосубтилин Г3х. Очищенные ферментные препараты вносятся в дозе 0,02-0,5 % от массы сырья, а неочищенные – 0,5-1 %. «Х» означает ферментные препараты без предварительной очистки. «Цифры» характеризуют степень активности по отношению к нативной культуре. «П» – поверхностное выращивание культуры, а «Г» – глубинное.

Процессом силосования можно управлять путем искусственного обогащения зеленой массы специальными культурами молочно-кислых бактерий (*Lactobacillus plantarum*, *L. acidophilus*, *L. faecalis*, *Streptococcus lactis*, *L. brevis*). Они активно размножаются в ней и ведут процесс созревания силоса в нужном направлении. С этой целью выращивают биомассу, которую затем переводят в анабиотическое состояние.

Кроме монокультур при изготовлении заквасок для силосования применяют смеси культур. В состав заквасок следует вводить бактерии с амилолитической и целлюлазной активностью. Часто ферменты и закваски применяют совместно.

Практическая работа

Исследование физико-химических свойств силоса

ЦЕЛЬ: определить некоторые физико-химические характеристики силоса (кислотность, содержание аммиака).

По органолептическим и химическим показателям силос подразделяют на

три класса (I, II, III) и неклассный (таблица 2.1).

Таблица 2.1 – Требования, предъявляемые к качеству силоса с применением консервантов

Показатель	Характеристика и нормы для классов		
	I	II	III
Запах	приятный, фруктовый, квашеных овощей		допускается слабый запах меда, ржаного хлеба, уксусной кислоты
Массовая доля сухого вещества (%), не менее:			
из подсолнечника, топинамбура	18	15	12
из кукурузы	18	15	12
из трав и их смеси	20	18	15
Содержание каротина в сухом веществе (мг/кг), не менее:			
из многолетних трав	60	40	30
из кукурузы и прочих растений	70	60	40
Концентрация водородных ионов (рН):	3,8–4,3	3,8–4,3	3,7 – 4,5
Массовая доля молочной кислоты в общем количестве кислот (%), не менее:	50	55	40
Массовая доля масляной кислоты (%), не более:	0,1	0,1	0,2

К не классному относят силос бурого и темно-коричневого цвета с сильным запахом меда или свежеиспеченного ржаного хлеба, соответствующий по остальным показателям требованиям ГОСТа.

1. ОПРЕДЕЛЕНИЕ КИСЛОТНОСТИ СИЛОСА

Оборудование:

1. Весы технические и аналитические.

2. Химический стакан на 50 мл.
3. pH-метр.
4. Фарфоровая чашка.
5. Коническая колба на 200 мл.
6. Обратный холодильник (прямой, длиной 40 см).
7. Цилиндр мерный на 100 мл.
8. Пробирки мерные.
9. Пипетки на 5 мл.
10. Пипетки глазные.
11. Нож.
12. Горелка газовая.
13. Астбестовая сетка.

Реактивы:

1. Силосный индикатор (реактив №1: метилпрот – 0,1 г, спирт-ректификат – 300 мл, дистиллированная вода – 200 мл; реактив №2: бромкрезолпурпур – 0,1 г; гидроксид натрия 0,03 н раствор – 3,7 мл; дистиллированная вода – 500 мл).
2. Вода дистиллированная.
3. NaOH, 0,1 н раствор.
4. Красная лакмусовая бумага.

Ход анализа:

Определение концентрации водородных ионов (pH) проводят двумя методами: с помощью pH-метра и силосного индикатора.

1) Навеску свежего силоса массой 5 г помещают в химический стакан на 50 мл, приливают дистиллированную воду, чтобы силос полностью пропитался и настаивают в течение 1 часа. Определяют значение pH с помощью pH-метра.

За окончательный результат принимают среднее арифметическое значение двух параллельных определений.

2) Для определения pH силоса выпускают готовый специальный силосный индикатор. Однако его можно приготовить в условиях лаборатории

из следующих ингредиентов:

Реактив № 1: метилрот – 0,1 г; спирт-ректификат – 300 мл дистиллированная вода – 200 мл.

Реактив №2: бромкрезолпурпур – 0,1 г; гидроксид натрия (0,03 н раствор) – 3,7 мл; дистиллированная вода – 500 мл.

Реактивы хранят отдельно и перед употреблением их смешивают в соотношении 3 части реактива № 1 и 1 часть реактива № 2.

Для установления pH 10-15 г силосной массы помещают в химический стаканчик и заливают 50-60 мл дистиллированной водой, настаивают 10-15 минут. 1-2 мл настоя переносят в фарфоровую чашку и добавляют 2-3 капли силосного индикатора. Через 2-3 минуты по окраске жидкости определяют значение pH:

- красная 4,2 и ниже
- красно-оранжевая 4,2-4,6
- оранжевая 4,6-5,1
- желтая 5,1-6,1
- желто-зеленая 6,1-6,4
- зеленая 6,4-7,2
- зелено-синяя 7,2-7,4

Определение кислотности

В силюсе хорошего качества молочной кислоты должно быть в 2-3 раза больше (1,5-1,8%), чем уксусной (0,2-0,5%). Если процесс силосования идет неправильно, то соотношение этих кислот нарушается.

Для определения общей кислотности силоса готовят вытяжку, которую титруют 0,1 н раствором гидроксида натрия. Среднюю пробу силоса мелко нарезают и навеску (20 г) помещают в коническую колбу, заливают дистиллированной водой (200 мл) и тщательно перемешивают. Колбу соединяют с обратным холодильником, нагревают в течение 1 часа и полученный дистиллят охлаждают. После охлаждения содержимое колбы титруют 0,1 н раствором гидроксида натрия. В период титрования

периодически наносят одну каплю содержимого на красную лакмусовую бумагу и окончание титрования устанавливают по появлению голубого ободка от одной капли раствора.

Содержание кислот в силосе в переводе на молочную кислоту выражают в процентах: 1 мл 0,1 н раствора гидроксида натрия соответствует 0,009 г молочной кислоты.

Кислотность определяют по молочной кислоте, потому что она обладает более высокой диссоциирующей способностью по сравнению с уксусной (в 9 раз) и масляной (в 90 раз) кислотами.

Общую кислотность силоса (%) определяют по формуле:

$$0,009a$$

$$X = \frac{-----}{m} \times 100,$$

где X – кислотность силоса, %;

0,009 – коэффициент пересчета всех кислот на молочную кислоту;

a – количество 0,1 н раствора гидроксида натрия, пошедшего на титрование, мл;

100 – коэффициент перевода в проценты;

m – масса навески корма, г.

2. ОПРЕДЕЛЕНИЕ АММИАКА В СИЛОСЕ

Содержание аммиака в сiloсе служит показателем гнилостного разложения белка. Определяют с помощью реактивов Эбера и Несслера.

Оборудование:

1. Весы технические.
2. Штатив с пробирками.
3. Стеклянная палочка.
4. Бумажный фильтр.
5. Колба на 250 мл.
6. Пробка с проволокой для пробирки.

7. Нож.

8. Пипетка на 5 мл.

Реактивы:

1. Реактив Эбера (1 часть крепкой соляной кислоты, 3 части 96%-ного спирта, 1 часть эфира).

2. Вода дистиллированная.

Ход анализа:

1. В широкую пробирку наливают 1-2 мл реактива Эбера. Пробирку закрывают пробкой с пропущенной через нее проволокой, загнутой на нижнем конце в виде крючка, с насаженным на него кусочком силоса. Реакцию наблюдают в проходящем свете. При наличии в силосе свободного аммиака около кусочка образуется хорошо видимое облачко или беловатый туман из хлористого аммония.

2. Навеску мелко нарезанного силоса (25 г) помещают в колбу или мензурку на 250 мл и на 3/4 заливают дистиллированной водой. Содержимое колбы настаивают в течение 4-5 ч при температуре 20-25°C, периодически встряхивая или размешивая стеклянной палочкой. Полученный настой фильтруют через бумажный фильтр. Появление ярко-желтого или оранжевого окрашивания указывает на присутствие аммиачных соединений, а выпадение кирпично-красного осадка – на значительное их содержание.

Вопросы для самоконтроля:

1) Что такое силосование?

2) Из каких этапов состоит технология силосования кормов?

3) Перечислите преимущества силосования.

4) Способы силосования кормов.

5) Что понимают под термином «сахарный минимум»?

6) Какие факторы влияют на качество силоса?

7) Перечислите основные группы микроорганизмов, составляющих микрофлору силоса. Каковы их функции?

8) Охарактеризуйте фазы силосования в зависимости от развития

микрофлоры в силосуемой массе.

- 9) Какие химические процессы протекают в процессе силосования зеленой массы?
- 10) Роль фитонцидов при силосовании.
- 11) Принцип химического консервирования сочных кормов.
- 12) Перечислите химические средства для консервирования зеленых кормов и влажного зерна.

Тема 3. БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ ПРИЕМЫ В ПРОИЗВОДСТВЕ СЕНАЖА

Технология и преимущества сенажирования кормов

Сенажирование – разновидность консервирования корма, который получается из провяленных до влажности 45-55 % многолетних и однолетних трав. Сохранность кормов обеспечивается не за счет значительной кислотности, а за счет физиологической сухости исходного сырья, сохраняемого в анаэробных условиях. pH сенажа 4,4-5,6. По аминокислотному составу сенаж приближается к зеленым растениям. При сенажировании могут образовываться оксиды азота, диоксид серы и сероводород. Они подавляют жизнедеятельность гнилостных и других бактерий и тем самым способствуют повышению качества сilage, сохранности питательных веществ.

Технология приготовления сенажа:

- 1) скашивание и провяливание растений;
- 2) подбор травы из валков, измельчение ее и погрузка в транспортные средства;
- 3) транспортировка и закладка в хранилище (траншеи);
- 4) укрытие хранилищ.

Основные преимущества сенажа сводятся к следующему:

– снижаются потери питательных веществ на 5–20 % по сравнению с

- заготовкой силоса из свежескошенной зелёной массы и сена из сеяных и естественных трав;
- повышается потребление сухого вещества корма на 1-2 кг в расчёте на корову в сутки по сравнению со скармливанием силоса из свежескошенных растений;
 - по сравнению с заготовкой сена существенно уменьшается зависимость от погодных условий;
 - снижается потребность в силосохранилищах, так как в 1 м³ их объёма можно хранить вдвое большее количество сухого вещества, чем при силосовании свежескошенных трав.

Для приготовления сенажа используют бобовые культуры – люцерна, клевер, донник, эспарцет, козлятник восточный; злаковые – кострец, тимофеевку; смеси бобовых и злаковых культур. Различают сенаж из однолетних трав; из смеси бобовых и злаковых трав; из многолетних трав.

В последние годы распространен опыт хранения сенажа в рулонах обмотанных плёнкой. Основные преимущества заготовки сенажа в рулонах по плёнкой заключаются в следующем:

- не требуется наличия специальных капитальных кормохранилищ (траншей);
- обеспечивается возможность уборки небольших партий зеленого корма и дробная его закладка по мере поступления;
- исключаются потери питательных веществ и снижение качества корма от аэробной порчи, обычно наблюдаемой при выемке сенажа из траншей;
- не требуется наличия дорогостоящих полевых измельчителей (кормоуборочных комбайнов), так как сенаж формируется в рулоны в измельчённом виде.

Микробиологические и биохимические процессы при сенажировании

Исходная влажность растительной массы, закладываемой на консервирование, влияет на соотношение в ней разных групп бактерий и на интенсивность микробиологических процессов. Например, в подвяленном клевере численность микроорганизмов в 80-100 раз выше, чем в исходном сырье с влажностью 74 %. Молочнокислые бактерии составляют 80-90 % от общего количества микроорганизмов.

Молочнокислые бактерии имеют повышенное осмотическое давление в клетках. Это позволяет им активно проявлять свою жизнедеятельность тогда, когда развитие гнилостных микроорганизмов подавлено. Они имеют увеличенный объем клеток и сбраживают маннозу, рамнозу, сорбит, декстрин и крахмал, а основными продуктами брожения являются молочная и уксусная кислоты.

Микробиологические процессы интенсивно протекают в первые 7-10 дней. В проявленном сырье жизнедеятельность кишечной палочки и гнилостной микрофлоры ограничена при 65%-й влажности, а размножение молочнокислых бактерий сводится к минимуму при снижении влажности до 40 %. Скорость течения микробиологических процессов связана с образованием органических кислот. Их наибольшее количество наблюдается, когда численность микроорганизмов достигает максимума, причем в сенаже молочной кислоты в 2,4 раза меньше, чем в силосе, а свободной уксусной – в 2 раза. В клетках проявленных растений в связи с активизацией амилазы происходит гидролиз крахмала и накапливаются легко сбраживаемые углеводы. Концентрация их в клеточном соке увеличивается в 2 раза, что создает благоприятные условия для развития молочнокислых бактерий при консервировании высокобелковых трудно силосующихся культур.

В процессе сенажирования под действием протеаз растительных клеток происходит ферментативный гидролиз белка. Распад белка идет до

аминокислот через промежуточные соединения и аммиака. Через некоторое время после закладки растительной массы в газонепроницаемое сооружение наступает анаэробиоз, и распад белка ограничивается стадией образования аминокислот. По мере накопления аминокислот активность протеаз снижается, а затем прекращается. Повышенное осмотическое давление угнетает рост сначала масляно кислых микробов, затем молочнокислых и наконец гнилостных. При этом понижается pH, который в совокупности с осмотическим давлением препятствует развитию масляно кислых бацилл. Поэтому в сенаже масляная кислота обычно отсутствует, и появляется только в результате гнилостного распада протеина.

В сенажной массе образуется молочной кислоты – около 80 %, а уксусной около 20 % от общего количества образующихся органических кислот. Они служат консервантами. В образовании уксусной кислоты участвуют дрожжи, уксуснокислые, молочно кислые, масляно кислые бактерии и другие микроорганизмы. В первые сутки брожения в корме преобладает уксусная кислота, в дальнейшем образование ее затухает. При сильном уплотнении массы температура в ней колеблется в пределах 27–37 °С. При слабом уплотнении температура повышается до 40–45 °С и более, развивается масляно-кислое брожение.

Практическая работа

Количественное определение молочной кислоты в сенаже

ЦЕЛЬ: определить содержание молочной кислоты в сенаже.

Исследуемый материал или раствор обрабатывают, прежде всего, соответствующими реактивами для удаления белков и углеводов, после чего имеющаяся молочная кислота окисляется в кислой среде и в присутствии определенных катализаторов перманганатом калия в ацетальдегид, который отгоняется в отмеренное количество бисульфита и учитывается йодометрическим путем.

Оборудование:

1. Лабораторная фильтровальная бумага марки ФНБ.
2. Холодильник Либиха.
3. Круглые плоскодонные колбы вместимостью 500 мл со шлифами.
4. Круглые плоскодонные колбы без шлифов на 1000 мл.
5. Бюretки на 10-20 мл; стеклянные воронки диаметром 12-15 см.
6. Мерные цилиндры на 250 мл.
7. Мерные колбы на 50, 100, 250, 1000 мл.
8. Конические колбы на 100, 200 мл.
9. Пипетки на 5 мл.
10. Технические весы.
11. Колбонагреватели на 300 и 200 Вт.
12. Штативы.

Реактивы:

1. CaO и CuSO₄, 10%-ные растворы.
2. H₂SO₄, 50%-ный раствор (398 мл серной кислоты (плотность 1,84 г/см³) добавляют к 500 мл дистиллированной воды, после охлаждения доводят объем раствора до 1 л водой).
3. NaOH, 0,05 н раствор.
4. Фенолфталеин.
5. K₂Cr₂O₇, раствор.
6. Пемза прокаленная.
7. Вода дистиллированная.

Ход анализа:

1. Среднюю пробу сенажа хорошо измельчают, перемешивают и, отвесив из нее 100 г, помещают в мерную колбу на 1000 мл, после чего заливают до метки дистиллированной водой. Колбу закрывают пробкой и встряхивают, а затем ставят для настаивания в прохладное место на 12 часов. По истечении этого времени содержимое колбы перемешивают и вытяжку фильтруют через вату в широкогорлой воронке.

2. Обессахаривание фильтрата: 200 мл полученного фильтрата переносят в мерную колбу вместимостью 250 мл, с помощью цилиндра добавляют туда 20 мл взвеси оксида кальция и 10 мл раствора сернокислой меди, содержимое встряхивают и оставляют на 1 час. Затем доводят дистиллированной водой объем жидкости в колбе до метки, перемешивают и фильтруют через сухой складчатый фильтр в сухую колбу. Полученный фильтрат используют для исследования.

3. 200 мл обессахаренного фильтрата помещают в круглую плоскодонную отгонную колбу вместимостью 500 мл и для перевода связанных кислот в свободные добавляют в колбу 5 мл 50 %-ного раствора серной кислоты, а для равномерного кипения вносят 4-5 кусочков пемзы. Содержимое колбы взбалтывают, колбу быстро соединяют с холодильником Либиха и нагревают.

4. Сначала в течение 20-30 минут отгоняют первый дистиллят объемом 100 мл, затем, не прерывая отгона, в течение 10-15 минут отгоняют в другую колбу еще 50 мл. В качестве приемника удобно пользоваться мерными колбами вместимостью 100 и 50 мл с притертymi пробками. После отгона дистиллятов колбочки немедленно плотно закрывают.

5. После отгона первого и второго дистиллятов к остатку жидкости в отгонной колбе добавляют для окисления молочной кислоты в уксусную 55 мл раствора двухромовокислого калия, а также 100 мл дистиллированной воды.

6. Жидкость в колбе нагревают до кипения и затем в течение 10-15 минут отгоняют в мерную колбу 50 мл.

7. Все дистилляты поочередно переносят в конические колбы. Мерные колбы ополаскивают 10-15 мл воды, воду сливают в колбы с дистиллятами. Дистилляты титруют 0,05 н раствором едкого натра в присутствии нескольких капель фенолфталеина до слабо-розового окрашивания, не исчезающего в течение 1 мин. Количество израсходованной на титрование щелочи умножают на 1,25. Количество миллилитров 0,05 н щелочи, израсходованное на титрование первого, второго и третьего дистиллятов, обозначают соответственно индексами D_1 , D_2 , D_3 . Содержание кислот в силосе и сенаже (n

процентах) определяют по следующим формулам:

- Уксусной $0,096D_2 - 0,021D_1$
- Масляной $0,043D_1 - 0,068D_2$
- Молочной $0,123D_3 - 0,046D_2 + 0,006D_1$

При определении кислот в силюсе допускаемые расхождения между результатами параллельных определений не должны превышать $\pm 0,03\%$.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Биотехнология кормопроизводства / сост.: В.А. Блинов, М.Ю. Руднев, И.А. Сазонова, Е.А. Суржина. – Саратов: ООО «Ладога-ПРИНТ», 2006. – С. 45-49, 52-54, 56-57.

Вопросы для самоконтроля:

- 1) Что такое сенажирование?
- 2) Из каких этапов состоит технология приготовления сенажа?
- 3) В чем заключаются преимущества сенажирования кормов?
- 4) Какие микробиологические и биохимические процессы происходят при сенажировании?
- 5) Назовите главные факторы, обусловливающие сохранность кормов при сенажировании.
- 6) pH сенажа.

Тема 4. ПРОТЕИНИЗИРОВАННЫЕ КОРМА, КРАХМАЛОПРОДУКТЫ

Способы увеличения количества протеина в растительных кормах

По данным ВАСХНИЛ, из 12% белка пшеницы и 10% белка ячменя эффективно используется в организме животных лишь около 6%, а из 23% белка гороха - 10%. Объясняется это несбалансированностью белков по отдельным аминокислотам. Поэтому в растительные корма необходимо вносить высокобелковые добавки: рыбную и мясо-костную муку, сухие молочные продукты, шроты, жмыхи, люцерну, клевер, сою. Однако в нашей стране ресурсы таких кормов ограничены.

Биотрансформация растительного сырья и вторичных продуктов сельского хозяйства и перерабатывающей промышленности с помощью микроорганизмов создает возможность получения в специальных цехах значительных (возможно, намного больших, чем в микробиологической промышленности) количеств кормовых продуктов, обогащенных микробным белком. Основное отличие таких продуктов - большая вариабельность их химического состава, зависящая от характера перерабатываемого сырья, вида используемого микробы - продуцента, способа его культивирования.

Препараты, полученные путем глубинного культивирования мицелиальных грибов и дрожжей, содержат больше белка, чем препараты, полученные поверхностным методом. Например, на сточных водах пищевых предприятий при культивировании дрожжей получены препараты, содержащие 30-45%, на безбелковом коричневом соке зеленых растений - около 30% сырого протеина от сухой массы. Крахмалсодержащие жидкие среды даже с нерастворимыми включениями обеспечивают значительно большее содержание сырого протеина в конечном продукте (30-40%), чем среда с измельченным целлюлозосодержащим субстратом (10-15% сырого протеина).

Примером зависимости эффекта *протеинизации* от способа культивирования (при прочих равных условиях) является выращивание термофильных грибов на свекловичном жоме в глубинной и твердофазной культурах. Максимальный прирост белка в первом случае — 40,2 %, во втором — 264 %. Тем не менее у твердофазной ферментации имеются большие перспективы для широкого внедрения в самых различных хозяйствах, занятых производством и переработкой сельскохозяйственной продукции.

Грубые растительные корма могут быть обогащены грибным белком до 20-25%, иногда получают и более высокие результаты — 25-30%.

Эффективность *протеинизации* у мицелиальных грибов может быть заметно выше (в 3-10 раз), чем у дрожжей (в 2-3,5 раза), но, как правило, это сопровождается заметным удлинением процесса ферментации, значительно более эффективными (а значит, и дорогостоящими) должны быть меры по поддержанию стерильности процесса. Содержащийся в клетках мицелиальных грибов хитин снижает качество получаемого с их помощью корма, так как ряд грибов весьма устойчив к воздействию желудочного сока животных. Все это говорит о том, что выбор микроорганизма-продуцента в каждом конкретном случае будет зависеть от условий и возможностей предприятия, ведущего биотрансформацию растительного сырья.

В ходе процесса протеинизации может происходить не только количественное нарастание белка в продукте, но и повышение его качества (соотношения незаменимых и заменимых аминокислот), что зависит прежде всего от используемой микробной культуры. По содержанию некоторых незаменимых аминокислот микробные белковые препараты превосходят соевый шрот и рыбную муку, например по лизину, метионину, гистидину, треонину и триптофану.

Полученный конечный продукт будет комплексным, т. е. он будет содержать наряду с наросшей микробной биомассой остатки трансформируемой плотной питательной среды. В процессе твердофазной ферментации потребляется лишь часть содержащихся в исходном сырье

крахмала, пектина, гемицеллюлозы, целлюлозы. Получаемый комплексный препарат глубинной ферментации на комплексных плодовоовощных вторичных продуктах содержит 21,5% протеина. Превышение этих оптимальных доз нежелательно, так как, с одной стороны, иногда оно может приводить к снижению продуктивности животных, а с другой стороны, просто невыгодно экономически.

Т.о., для увеличения количества протеина в растительных кормах используют два приема:

1) Выращивание микроорганизмов на крахмалсодержащем сырье. Это повышает количество протеина и обогащает продукт витаминами. Например, в дрожжах присутствуют все витамины группы В и различные другие вещества, стимулирующие рост и метаболизм;

2) Введение гидролитических ферментов. Добавление таких ферментов в корма увеличивает прирост живой массы животных и птиц в среднем на 10 - 15 % и снижает затраты корма на 1 кг прироста на 5 - 7 %.

Введение микробных кормовых препаратов в рационы сельскохозяйственных животных и птицы повышает их продуктивность, создает возможность обеспечивать длительное оптимальное течение обменных процессов в организме животного, полную и правильную реализацию его генетического потенциала (так называемые жизнеподдерживающие свойства). Естественно, что использование таких кормовых добавок может заметно улучшить экономические показатели, повысить прибыль предприятий, применяющих эту технологию. При этом качество животноводческой продукции, получаемой с применением микробных препаратов, не уступает таковому на обычных кормах.

Ограничивает широкое использование биомассы одноклеточных в рационах животных, а тем более в пище человека, высокое содержание в ней нуклеиновых кислот. Предлагаемые химические методы денуклеинизации микробных препаратов приводят в то же время и к потерям белка, что весьма нежелательно.

Препараты, получаемые на растительном сельскохозяйственном сырье с помощью мицелиальных грибов, содержат около 1% нуклеиновых кислот. Несколько больше содержание нуклеиновых кислот в дрожжевых препаратах, полученных на растительном сырье, - 3-4%.

Технологический процесс получения белково-ферментного препарата

Процесс получения белково-ферментного препарата заключается в следующем:

1. Приготовление посевного материала.

Дрожжеподобную культуру *Enolomycopsis fibulgera* R-574 выращивают на питательной среде, которая содержит (в %): мелассу – 5,0 или различную фуражную муку – 10; (NH₄)₂HPO₄ – 0,3; CaCl₂ – 0,04. Исходное значение pH среды – 6,8-2; температура выращивания 30-32 °С. В ферментаторе инокулят размножается на мелассной среде. В культуральную жидкость его вводят из расчета 1 %. Выращивание посевного материала длится 13-16 ч.

2. Главная ферментация. Дрожжевую культуру в главном ферментаторе выращивают при температуре 30-32 °С с постоянным перемешиванием и подачей воздуха 12 ч. Следует помнить, что живые клетки в организме животных перевариваются с трудом, поэтому часть дрожжевого белка не усваивается. В связи с этим культуральную жидкость подогревают до 90 °С в течение получаса. Готовая продукция не может долго храниться, и поэтому её после завершения ферментации направляют на ферму для скармливания животным в смеси с другими кормами.

Тема 5. МОДИФИКАЦИЯ СОКА ЗЕЛЕНЫХ РАСТЕНИЙ

Общая характеристика

Из зеленой массы люцерны, клевера и травосмеси можно за сезон получить свыше 1 тонны протеина с гектара. Стоимость протеина зеленой массы в 2,5-5 раз меньше, чем протеина зерна.

В настоящее время предложены следующие методы получения протеиновых концентратов: отжатие сока; коагуляция протеина с последующим центрифугированием и сушкой. Эти методы достаточно сложные, дорогие, требуют значительных энергозатрат.

Большую привлекательность имеет технология анаэробной ферментации растительного сока и коагуляция белка химико-биологическим путем, а также силосование жома. В этом процессе спонтанного брожения контролируется общая кислотность и соотношение кислот. При достижении определенного pH происходит коагуляция протеина, иногда для усиления ее добавляют флокулянты или химические консерванты.

При анаэробной ферментации кормовые свойства растительного протеина улучшаются, так как инактивируется ингибитор трипсина, алкалоидов, трансформируется фенол, ненасыщенные жирные кислоты. К растительному протеину присоединяется бактериальная биомасса с высоким содержанием метионина. По химическому составу ферментативный сок приближается к обрату. Причем, срок хранения такого продукта значительно увеличивается. Качество же силосованного жома улучшается путем внесения закваски молочнокислых бактерий.

Технология ферментации растительного сока

Периодическая технология. Ферментатор-коагулятор постепенно заполняют свежеотжатым соком. Когда pH снижается до 4,2-4,5, сок уже можно скармливать животным, не отделяя коагулят или выделяя часть протеина с

коагулятом.

Непрерывная или полунепрерывная технология. В центральную часть ферментатора-коагулятора непрерывно или порциями подают свежий сок, который вытесняет из аппарата ферментированный сок. Периодически из нижней части выпускают коагулят. При такой технологии и вследствие полного заполнения ферментатора-коагулятора жидкостью, в нем создаются анаэробные условия и не развивается плесень. Аппарат может работать неделями без остановки и чистки. Перед началом ферментации в чистый аппарат необходимо ввести около 10 % активно бродящего сока или суспензию закваски кислотообразующих бактерий. Этот процесс технически не сложен, малоэнергоемок. Полученный сок практически свободен от целлюлозы и содержит 1-3 % протеина.

Практическая работа

Стабилизация жидких протеиновых продуктов химическими консервантами

ЦЕЛЬ: исследовать химический состав жидких протеиновых продуктов растительного происхождения.

Жидкие протеиновые продукты (сок зеленой массы кормовых растений, сыворотка, коагулят) отличаются высокой влажностью и высоким содержанием белков. Такой субстрат служит хорошей средой для развития микроорганизмов, особенно бактерий с протеолитической активностью, в результате жизнедеятельности которых может разлагаться протеин и снижаться качество продуктов. С целью длительного сохранения жидких протеиновых продуктов и стабилизации микробиологических процессов и химического состава используют химические консерванты.

Одним из таких консервантов является формалин. Известно, что формалин, добавленный к соку, например, ботвы сахарной свеклы, сразу же после внесения сильно, ингибирует развитие микроорганизмов и прекращает развитие кислотообразующих бактерий в соке. Консервант препятствует

снижению значений рН, останавливает процесс брожения и конверсию углеводов в кислоты, тормозит распад белка. В тоже время в соке без формалина в анаэробных условиях в результате бурного развития кислотообразующих бактерий происходит спонтанное закисание, быстро снижение рН, углеводы превращаются в органические кислоты, протеолизу подвергается значительная часть белка.

Материал исследования: свежеотжатый сок ботвы сахарной свеклы.

Оборудование:

1. Термостат.
2. pH-метр или индикаторная бумага.
3. Водяная баня.
4. Фотоэлектроколориметр (КФК-3).
5. Центрифуга.
6. Пробирки.
7. Пипетки.
8. Воронки.
9. Фильтры.
10. Колбы с притертymi крышками.

Реактивы:

1. 10 % раствор формалина.
2. Биуретовый реагент.
3. Стандартный раствор белка (1 %).
4. o-толуидиновый реагент.
5. 3 % раствор ТХУ.
6. Стандартный раствор глюкозы (100 мг %).

Ход анализа:

В 3 колбы наливают по 50 мл свежего сока, полученного механическим отжатием ботвы сахарной свеклы. Первая колба – контрольная. Во вторую и третью добавляют соответственно 0,1 и 1,0 мл 10 % раствора формалина. Все три колбы плотно закрывают стеклянными крышками и помещают в термостат

при температуре 37 °С. О степени стабилизации сока судят по величине pH уровня углеводов и содержанию общего белка, которые определяют в соке до начала эксперимента, через 1 ч и через неделю после постановки опыта.

По результатам исследований строят графики зависимости величин определяемых показателей от продолжительности и условий хранения сока.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ pH СОКА

pH сока определяют с помощью индикаторной бумаги или pH-метра.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ КОНЦЕНТРАЦИИ УГЛЕВОДОВ

Концентрацию углеводов в соке определяют о-толуидиновым методом. Для этого в три пробирки (одна из них центрифужная) отмеряют по 1,8 мл раствора ТХУ. В первую пробирку (центрифужную) приливают 0,2 мл сока (опытная пробы), во вторую – 0,2 мл стандартного раствора глюкозы (стандартная пробы) и в третью – 0,2 мл воды (контрольная пробы). Содержимое пробирок перемешивают и опытную пробу центрифицируют в течение 10 минут при 2500-3000 об./мин. Центрифугат сливают в сухую пробирку.

Из каждой пробы отбирают по 0,5 мл раствора, переносят в другие пробирки, помеченные соответственно стеклографом, и добавляют во все пробирки по 4,5 мл о-толуидинового реактива. Пробирки закрывают кусочками фольги вместо пробок. Растворы перемешивают и помещают в кипящую водяную баню на 8 мин. После этого пробирки охлаждают под водопроводной водой и измеряют оптическую плотность опытной и стандартной проб на КФК-3 с красным светофильтром (при длине волны 670 нм в кювете с толщиной слоя 1 см против контрольной пробы).

Расчет проводят по формуле:

$$C_{\text{оп.}} = C_{\text{ст.}} \cdot (E_{\text{оп.}} / E_{\text{ст.}}),$$

где $C_{\text{оп.}}$ – концентрация глюкозы в соке (мг %);

$C_{\text{ст.}}$ – концентрация стандартного раствора глюкозы, мг %;

$E_{\text{оп.}}$ – оптическая плотность опытной пробы;

$E_{\text{ст.}}$ – оптическая плотность стандартной пробы.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ ОБЩЕГО БЕЛКА

Содержание общего белка определяют биуретовым методом. Для этого берут три пробирки. В первую наливают 1 мл сока (опытная пробы), во вторую – 1 мл стандартного раствора белка (стандартная пробы) и в третью – 1 мл воды. Во все пробирки добавляют по 4 мл биуретового реактива, перемешивают. Смесь оставляют стоять в течение 30 минут при комнатной температуре. Измеряют оптическую плотность на КФК-3 (зеленый светофильтр, длина волны 540 нм в кювете с толщиной слоя 1 см против контрольной пробы).

Расчет проводят по формуле, аналогичной для расчета концентрации глюкозы.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Общая биотехнология: методические указания к лабораторным работам / сост.: В.А. Блинов, С.Н. Буршина. – Саратов: «РИК «Полиграфия Поволжья», 2004. – С. 58-60.

Вопросы для самоконтроля:

- 1) Опишите технологию получения белково-ферментного препарата с использованием крахмалсодержащего сырья.
- 2) Обоснуйте целесообразность ферментации растительного сока и силосования жома.
- 3) Опишите технологию ферментации растительного сока.

Тема 6. КОРМОВЫЕ ДОБАВКИ БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКОГО ГЕНЕЗА

6. 1 Кормовые препараты аминокислот

Учитывая высокую потребность сельскохозяйственных животных и птицы в белках, важными биодобавками следует считать аминокислоты, ибо дефицит аминокислот, нарушая биосинтез белка, тормозит рост и развитие, может вызвать различного рода заболевания. С этой целью применяют различные лизинпротеиновые препараты, например, липрот, а также глицин.

метионин. Введение липрота в рацион бройлеров сокращает потребление корма животного происхождения в 2 раза, увеличивает привесы птицы на 10 - 20 %, способствует повышению яйценоскости кур-несушек, увеличению массы яиц и улучшению их инкубационных свойств. Глицин нормализует обмен веществ при возникновении транспортного стресса.

Ряд положительных эффектов отмечен и при использовании «защищенного» метионина - повышение уровня молочного белка, удоя, снижение частоты кетозов, улучшение биохимических показателей крови и репродуктивных показателей, снижение в молоке числа соматических клеток.

Производство аминокислот. В настоящее время производство аминокислот составляет свыше 500 тыс. т в год, из них глутаминовой кислоты производится 200 тыс. т, метионина 160 тыс. т, лизина 50 тыс. т и т.д. Аминокислоты производятся как микробиологическим (~ 60%), так и химическим путем. Так, химическим синтезом получают D,L-метионин из акролеина, DL-триптофан из индола и нитроуксусного эфира, L-глутамат натрия из акрилонитрила, L-лизин из циклогексанона и др. Однако при химическом синтезе всегда образуются рацематы - смеси D-и L-аминокислот, для разделения которых нужна сложная и дорогостоящая очистка. D-аминокислоты являются балластом, т.к. не усваиваются организмом человека и животного, повышают расходные коэффициенты используемого сырья на 1 т продукции, некоторые из них токсичны. Исключение составляют глицин, у которого нет оптически активных изомеров и метионин, DL- формы которого усваиваются организмом в равной мере.

С 50-х годов XX в. известна способность ауксотрофных мутантов *Brevibacterium*, *Micrococcus*, *Corynebacterium* и др. к сверхсинтезу экстрацеллюлярных аминокислот. Это явилось основанием для создания крупнотоннажного производства L-аминокислот. Так, генноинженерные штаммы-продуценты на основе *E. coli* позволяют за 40 ч ферментации накапливать в среде до 30 г/л L- треонина, до 27 г/л L-пролина, до 22,4 г/л L-фенилаланина.

Известно два способа получения аминокислот:

- а) одноступенчатый,
- б) двухступенчатый.

По первому способу мутантный полиауксотрофный штамм-продуцент аминокислоты культивируют на оптимальной для биосинтеза среде. Целевой продукт накапливается в культуральной жидкости, из которой его выделяют.

В двухступенчатом способе на первой ступени микроб-продуцент аминокислоты культивируют в жидкой питательной среде, где происходит биосинтез предшественников аминокислоты (заготовка) и ферментов, катализирующих образование целевого продукта. На второй ступени целевой продукт (аминокислота) синтезируется с помощью этих ферментов.

Лизин в организме животных определяет биологическую ценность перевариваемого белка, способствует секреции пищеварительных ферментов и транспорту кальция в клетки, улучшает азотистый баланс. В основном весь лизин, производимый в мире микробиологическим синтезом, расходуется на обогащение кормов сельскохозяйственных животных и птицы. Он используется в виде жидкого концентрата лизина (ЖКЛ), кормового концентрата лизина (ККЛ), высококонцентрированных кормовых препаратов лизина.

Ферментные препараты

В последние годы большой популярностью стали пользоваться ферментные препараты. Так, мазеробациллин Г3х обладает высокой пектатрансэлиминазной и ксиланазной активностью. Его применение при откорме бычков увеличивает среднесуточный прирост на 15,4 %, снижает затраты кормов на 1 кг прироста на 13,4 %, оказывает выраженное стимулирующее влияние на микрофлору рубца, благоприятно влияет на переваримость питательных веществ и эффективность использования корма, на гематологические и биохимические показатели крови, на состояние здоровья молодняка и качество мясной продукции. Близкими в этом отношении

оказались целламиридин Г20х, пекгофостидин П10х, протосубгилин Г3х амилосубтилин Г3х. Например, введение в рацион дойных коров ферментно препарата амилосубтилина Г3х приводит не только к повышению среднесуточных удоев (на 6,1 - 12,3 %), но и к нормализации сложнейших биохимических процессов: глюконеогенеза и мочевинообразования. Такие мультиэнзимные композиции, как МЭК-1 и МЭК-2 способствуют повышению прироста живой массы телят молочного периода выращивания при снижении затрат кормов. Отечественная биотехнологическая промышленность выпускает и другие мультиэнзимные композиции (МЭК-СХ), которые оказались эффективными по следующим параметрам: лучшее переваривание поступающих питательных веществ, усиление углеводно-липидного азотистого обменов, увеличение прироста живой массы телят и продуктивности коров, снижение затрат кормов.

Жидкая кормовая добавка фекорд Б, содержащая комплекс гидролитических ферментов – целлюлазу, ксиланазу и β -глюканазу полученные при ферментации гриба *Trichoderma reesei*, а также смесь биомасы грибов *Trichoderma reesei*, *Aspergillus awamori* и бактерий *Bacillus subtilis* стимулирует яйценоскость кур, способствует повышению живой массы цыплят, увеличению переваримости питательных веществ корма молодняком крупного рогатого скота.

Лабораторные и научно-хозяйственные опыты доказали целесообразность использования в качестве добавок к рационам сельскохозяйственных животных и птиц таких мультиэнзимных комплексов как авизим и порзим, ронозим натуфос и натугрейн бленд, био-фид-вит и био-фит-плюс, роксазим G2 гранулят, оллзайм и др.

Производство ферментных препаратов.

Технологические процессы производства ферментных препаратов можно разделить на 2 группы:

в первом случае ферментация ведется глубинным методом в жидкой питательной среде,

во втором — используется поверхностная культура, растущая на специально подготовленной рыхлой и увлажненной питательной среде.

Основные этапы глубинного метода культивирования продуцентов ферментов:

- получение посевного материала: исходная культура продуцента → маточная культура, выращенная в колбах на качалке → посевная культура, выращенная в инокуляторе → посевная культура, выращенная в посевном аппарате. Объем посевного аппарата обычно составляет до 10 % от объема промышленного ферментатора;
- приготовление питательных сред;
- стерилизация питательных сред с помощью мембранных или высоких температур;
- очистка воздуха до и после аэрирования;
- производственное культивирование.

Глубинный метод более совершенен, чем поверхностный, так как легко поддается механизации и автоматизации, легче и проще осуществляется переход к большим масштабам производства. Этот процесс должен проходить в строго асептических условиях, а концентрация ферментов в среде при глубинном культивировании обычно значительно ниже, чем в водных экстрактах поверхностной культуры.

При поверхностном методе культура растет на поверхности твердой увлажненной питательной среды. Недостатками метода является необходимость иметь большую поверхность контакта рыхлой среды с воздухом, что часто отражает неинтенсивный характер процесса. Мойка, стерилизация, перемещение кювет с небольшой высотой слоя, их заполнение и освобождение требует больших затрат ручного труда. Выращивание культуры проходит в неасептических условиях.

Преимущества поверхностного метода: конечная концентрация фермента на единицу массы среды более высокая, такие культуры легко выращивать и

приводить в товарную форму, снижена потребность в электроэнергии и т.д.

Культура микроорганизмов, выращенная поверхностным методом, и культуральная жидкость после глубинного культивирования содержит большое количество балластных веществ: биомассу продуцента, непотребленные компоненты среды, продукты метаболизма. Доля собственно ферментов составляет около 1 % для поверхностных и не более 0,1 % – для глубинных культур.

Витамины

Интенсивного роста и развития, высокой продуктивности и хорошо выраженного конституционального иммунитета удается добиться при оптимальном обеспечении организма животных витаминами: β-каротином, парааминообензойной кислотой, витамином U, витамином Е. Показано, что введение повышенных доз витамина А в рацион коров способствует стабилизации в молоке фракционного состава казеина, сывороточных белков и устойчивости казеинкальцийфосфатного комплекса. Целесообразным оказалось использование повышенных доз витамина Е при тепловых стрессах при выращивании бройлеров. Комплекс фолиевой и аскорбиновой кислот повышает продуктивность свиноматок, нормализует обменные процессы, стимулирует естественные защитные силы организма, а также инициирует многоплодие. Двойная норма витаминов В12 и фолиевой кислоты оказывает положительное влияние на сперматогенез птицы, увеличивает объем и общее количество спермисов в эякуляте, что способствует повышению оплодотворяемости яиц и процента вывода цыплят. Более высоких показателей продуктивности и естественной резистентности животных можно добиться при комплексном использовании витамина С и протосубтилина ГЗх, витамина U и смеси ферментных препаратов пектофоэтидина П10х и протосубтилина ГЗх, витамина K4 и цеолита, витамина B12 и кобальта.

Производство витаминов. Биотехнологическим путем производят

витамин А, D, B2, B12, С и др.

Каротиноиды (предшественники витамина А) синтезируются пигментными микроорганизмами из рода Fusarium, Pseudomonas, Sarcina др. Всего известно около 500 каротиноидов, которые продуцируются бактериями, дрожжами и мицелиальными грибами. Они находятся в клеточной мемbrane микроорганизмов в виде сложных эфиров и гликозидов или в свободном состоянии – в липидных гранулах цитоплазмы.

В основе витамина D лежит скелет эргостерина, который находится в клеточных 45 мембранах эукариот. Так, пекарские или пивные дрожжи содержат 0,2-11 % эргостерина. Под влиянием УФО эргостерин трансформируется в витамин D2, который легко переходит в D3. Продуцентами эргостерина также являются аспергиллы и пенициллы. В них содержится 1,2 - 2,2 % эргостерина. Облученные сухие дрожжи используют в животноводстве. В них содержится не менее 46% сырого белка, незаменимые аминокислоты (лизин, метионин, триптофан.) и 5000 МЕ витамина D2 /г.

Витамин B2 (рибофлавин) продуцируется бактериями, дрожжами и нитчатыми грибами. В настоящее время получают до 0,5 г и более рибофлавина в 1 л среды.

Витамин С синтезируют все растения и животные, кроме обезьян и морских свинок, а также человека. Микроорганизмы витамин С не синтезируют и в нем не нуждаются. Аскорбиновую кислоту получают химико-ферментативным способом. Так, некоторые виды уксуснокислых бактерий обращают полупродукт аскорбиновой кислоты – L-сорбозу. Затем проводят химическую стадию. В результате получается 2-кето-Lгулоновая кислота. Ее подвергают энолизации и трансформируют в L-аскорбиновую кислоту. L-сорбону также получают ферментацией *Gluconobacter oxydans* на средах, содержащих сорбат, кукурузный или дрожжевой экстракт при интенсивной аэрации. Выход L-сорбозы составляет 98 % за 2 суток. Культивирование проводят в периодическом или непрерывном режиме.

Витамин B12 (цианкобаламин) продуцируют пропионовые бактерии –

Propionibacterium var. *Shermanii*. На ацетобутиловой и спиртовой бардах с добавлением кобальта и метанола получают кормовой препарат, который содержит витамин В12 и другие ростовые факторы. Здесь биообъектом является смешанная культура метаногенных бактерий.

Пробиотики

Пробиотики – это живые, специально подобранные штаммы микроорганизмов или специфические субстанции микробного, растительного или животного происхождения. Иными словами, пробиотики – это биологические препараты, представляющие собой стабилизированные культуры симбионтных микроорганизмов или продукты их ферментации, которые способствуют росту последних и обладают разносторонним действием (таблица 1).

Так, в первые дни жизни животных пробиотические препараты вводят в заменители молока. Разработаны технологии приготовления сухих заменителей цельного молока с добавлением молочнокислых бактерий, ацидофильной палочки, пропионовокислых бактерий. Испытано профилактическое действие препарата галако (смесь гаммаглобулина, живых лактобацилл и непатогенных штаммов кишечной палочки, высущенных лиофильно с сухим молоком в качестве наполнителя) при заболеваниях пищеварительного тракта телят. Дача ацидофильного молока цыплятам, поросятам и телятам, способствует не только снижению кишечных заболеваний, но и увеличению привесов. Аналогичные данные получены, если цельное молоко заквашивали молочнокислыми бактериями (*Str. lactis*, *Str. cremoris*, *Str. diacetilactis* и *L. acidophilus* в соотношении 1:1:1:1).

Пробиотические микроорганизмы применяют и для приготовления кормосмесей. Так, при обработке корма для свиней закваской Леснова происходит биотрансформация клетчатки микроорганизмами, синтезируются витамины группы В, а также D, E, K, микробный белок. Все это повышает у

животных переваримость сырого протеина и сырого жира, сухого и органического вещества, улучшает использование азота, увеличивает мясную продуктивность. Приведем другой пример. При использовании живой культуры слизистых бацилл (*Vac. mucilagenosus*) для силосования кукурузы получен высококачественный силос, который повышает молочную продуктивность первотелок на 3,1 %, а содержание белка в молоке – на 3,6 %.

Показано, что пропиовит, созданный на основе пропионовокислых бактерий усиливает рост и повышает продуктивность птицы, поросят, телят, на 2 - 12 %, облегчает и ускоряет адаптацию животных к различным стресс-факторам. Он эффективен для профилактики желудочно-кишечных заболеваний и при нарушениях минерального обмена. Препараты на основе ацидофильной палочки положительно влияют на яйценоскость, качество яиц и микрофлору пищеварительного тракта птицы. Лиофилизированной культурой ацидофильной палочки является препарат биобактон. Использование биобактона увеличивает сохранность поросят-гипотрофиков, на 3-11 %, скорость роста, на 5-7 %, нормализует основные показатели периферической крови, способствует снижению затрат на приобретение кормов. Применение культуры молочнокислого стрептококка повышает устойчивость поросят к кишечным болезням. У телят отмечено увеличение живой массы тела, в среднем на 5,3 %, уменьшение частоты диареи, снижение падежа.

Высокую практическую значимость в АПК, в частности в животноводстве, имеют и другие монокомпонентные пробиотики: лактоамиловорин на основе чистой культуры антагонистического штамма лактобациллы, выделенной из химуса слепой кишки поросят, бифидосодержащий препарат бифинорм, целлобактерин, представляющий собой ассоциацию целлюлозолитических микроорганизмов, выделенных из нормальной микрофлоры пищеварительного тракта молодняка жвачных животных, каротинобактерин на основе штамма *Rhodococcus VKIIMS-916*, токарин на основе токоферолсинтезирующего штамма № 100, стрептофагин, содержащий бактериофаги, бактисубтил на основе *B. cereus* IP 5832 и др.

Показано, например, что введение в комбикорма для гусят лактоамиловорина оказалось благоприятное влияние на эритропоэз, синтез гемоглобина и обеспечение кислородом обменных процессов. Валовой сбор перопухового сырья увеличился на 7 %, улучшилось качество мяса, в котором стало больше белка, меньше жира и холестерина. Скармливание этого пробиотика оказывает положительное влияние и на биохимические процессы в печени цыплят.

Включение лактоамиловорина в рацион хряков-производителей улучшает их репродуктивные качества, оплодотворяемость свиноматок спермой таких хряков возрастает до 83-90 %, против 77 % в контроле. Скармливание лактоамиловорина холостым свиноматкам увеличивает выход живых поросят на 10,8 % и массу гнезда – на 8,9 %. Лактоамиловорин обеспечивает профилактическое (до 86 %) и лечебное действие при диарейных заболеваниях поросят и телят, повышает их сохранность до 95- 100 % и увеличивает прирост живой массы, на 20-30 %.

Приведем еще несколько примеров.

Пробиотик целлобактерин предназначен в качестве кормовой добавки для животноводства. Он повышает эффективность использования грубых кормов. Введение в рацион кур-несушек пробиотика целлобактерина позволяет значительно увеличить продуктивность, общую массу снесенных яиц и не уступает по эффективности кормовым ферментным препаратам. При добавлении в корм поросятам целлобактерина среднесуточный прирост их живой массы был выше на 26,8 %, чем у группы аналогов, выращенных по стандартной технологии с применением смеси кормовых антибиотиков медикато. Сохранность опытных поросят составила 83,4 %, а контрольных – 75,3 %. Ежедневное скармливание бычкам сухого целлобактерина увеличило общее количество микроорганизмов и простейших в рубце и их активность, способствовало лучшему поеданию грубых кормов, переваримости сухого вещества и, как следствие, увеличению среднесуточного привеса.

Многие авторы считают весьма перспективным обогащение кишечной микрофлоры животных не одной культурой, а целым рядом специально

подобранных штаммов, иными словами использование комплексных пробиотиков. Так, разработаны и внедрены следующие поликомпонентные пробиотические препараты: субтилис и биод-5, содержащие различные штаммы *B. subtilis* и *B. licheniformis*, пропиацид на основе пропионовокислых и ацидофильных микроорганизмов, лактобифадол, в состав которого включены ацидофильные и бифидобактерии, лактицид на основе *L. acidophilus*, *L. fermentum* и *Str. faecium*, СБА, содержащий бифидобактерии, фекальный стрептококк и ацидофильную палочку, лаком, в состав которого включены *L. acidophilus*, *P. shermanii*, *Str. faecium* и *Str. diacetylactis*, выпущены опытные партии препарата реалак, содержащего *L. acidophilus*, *L. fermentum*, *Bif. globosum* и автолизат дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* и др.

На основе новейших биотехнологических разработок создана натуральная кормовая добавка естур, состоящая из живых культур *Saccharomyces cerevisiae* высокой ферментативной активности, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*, *Streptococcus faecium*, *Bacillus subtilis*, а также ферментов, аминокислот, минералов, полисахаридов. Применение этого пробиотика увеличивало среднесуточный прирост телят, на 10,3-21,9 %, среднесуточный удой молока, на 10,7-11,3 %, а его жирность, на 0,32-0,52 %, способствовало снижению числа соматических клеток в молоке, в среднем, в 2,3 раза. В рубце таких телят увеличивалось общее количество микроорганизмов на 74,3 %, инфузорий – на 41,2 %.

Практическая работа

Исследование химического состава кормовых добавок.

Качественные реакции на витамины

ЦЕЛЬ: сформировать навык исследования химического состава кормовых добавок (на примере кормовых дрожжей).

Оборудование:

1. Газовая горелка.
2. Пробирки.

3. Пипетки.

4. Стеклянная палочка.

Реактивы:

1. Эфир.

2. Анилиновый реагент (15 частей анилина и 1 часть концентрированной соляной кислоты).

3. Концентрированная соляная кислота.

4. Цинк металлический.

5. 5% раствор сульфата меди.

6. 5% раствор хлорида железа (III).

7. 20% раствор серной кислоты.

Ход анализа:

Предварительно в химическую пробирку помещают 8 г кормовых дрожжей и, проверив, что в лаборатории погашены все горелки и нет включенных электроплиток, добавляют 2-4 мл эфира для разрушения клеточных оболочек. Содержимое пробирки растирают стеклянной палочкой. Эфир разрушает оболочки дрожжевых клеток.

Витамин D. К 2 мл полученной из дрожжей массы прибавляют 1-2 капли анилинового реагента, перемешивают и нагревают. Появляется красно-буровое окрашивание.

Витамин В2. К 2 мл гидролизата дрожжей добавляют 0,5 мл концентрированной соляной кислоты и небольшой кусочек металлического цинка. Начинается бурное выделение пузырьков водорода, жидкость постепенно окрашивается в красный цвет, затем окраска бледнеет.

Кислота никотиновая. К 3 мл теплого гидролизата дрожжей приливают 1 мл 5% раствора сульфата меди. Выпадает осадок синего цвета.

Витамин В6. К 1 мл гидролизата дрожжей прибавляют 2 капли 5% раствора хлорида железа (III), появляется красное окрашивание, исчезающее при добавлении 20% серной кислоты.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Общая биотехнология: методические указания к лабораторным работам / сост.: В.А. Блинов, С.Н. Буршина. – Саратов: «РИК «Полиграфия Поволжья», 2004. – С. 17-20, 72-75.

Вопросы для самоконтроля:

- 1) Значение аминокислот в рационе сельскохозяйственных животных и птицы.
- 2) Какие аминокислоты используются для обогащения кормов для сельскохозяйственных животных и птицы?
- 3) Биотехнологические аспекты получения аминокислот.
- 4) Какие ферментные препараты используются в качестве кормовых добавок к рационам сельскохозяйственных животных и птицы?
- 5) Биотехнологические особенности производства ферментных препаратов.
- 6) Роль ферментных препаратов в рационе сельскохозяйственных животных и птицы.
- 7) Целесообразность обогащения кормов для сельскохозяйственных животных и птицы витаминами.
- 8) Какие витамины производят микробиологическим путем?
- 9) Дайте определение термину «пробиотики».
- 10) Какое действие оказывают пробиотики на организм сельскохозяйственных животных и птицы?
- 11) Приведите примеры пробиотических препаратов, используемых в животноводстве и птицеводстве.

Тема 7. БИОКОНВЕРСИЯ ВТОРИЧНЫХ ПРОДУКТОВ В КОРМОПРОИЗВОДСТВЕ

Утилизация органических субстратов и навоза животноводческих комплексов (продукты вермикультуры, опарышей, простейших и других организмов)

Отходы животноводства (навоз, сточные воды, ил сточных вод), пищевые отходы можно утилизировать при помощи червей. Черви осваивают углеродсодержащие продукты, превращая их в высокоценнное удобрение - биогумус. Проходя через кишечник червя, органические компоненты подвергаются биохимическим изменениям, обогащаются макро- и микроэлементами, агрономически полезной микрофлорой и ферментами.

В результате многочисленных экспериментов обнаружены особенности в структуре микробных сообществ биогумуса и преобразовании органических веществ исходного субстрата. Прежде всего, это касается соединений азота и микроорганизмов, участвующих в их круговороте. Выявлены также различия в активности процессов, осуществляемых дождевыми червями разных видов и групп. Биогумус почвенных червей в сравнении с биогумусом навозных отличается несколько более медленными темпами разложения в почве лигноцеллюлозного комплекса, но в то же время более глубокой его деструкцией. Для него также характерно большее выделение CO_2 и образование максимальной биомассы микроорганизмов (в расчете на углерод), особенно микромицетов, находящихся в виде вегетативного мицелия, и целлюлозоразрушающих грибов.

Вермикомпостирование - переработка органических субстратов червями *Eisenia fetida Andrei* (красный калифорнийский гибрид) и *Lumbricus rabellus* (технический вид навозных червей), относящимися, согласно систематике, к кольчатым червям, к группе высших червей.

Навоз животных предварительно ферментируют. К жидкому навозу добавляют солому, древесные опилки, кору и другие твердые растительные

субстраты. Отходы подвергают механической сепарации и из твердой фракции формируют невысокие бурты, навоз же используют только после брожения, в процессе которого выделяются аммиак и метан. Для ускорения ферментации и освобождения от аммиака бурты с исходным субстратом обильно поливают водой и периодически аэрируют. По истечении 1-1,5 мес. на поверхность бурта вносят маточную культуру червей из расчета 10-12 тыс. на 1 м² поверхности. Из всех видов дождевых червей лишь немногие поддаются разведению в искусственных условиях. Наиболее универсальными по своим характеристикам являются навозные черви. Они практически всеядны.

Помимо таких традиционно используемых в вермикультуре компонентов, как навоз животноводческих комплексов, в последнее время стали использовать отработанный ил очистных сооружений и вторичные продукты предприятий микробиологической промышленности: биошрот, последнедожевый остаток, гидролизный лигнин, некондиционные бакпрепараты и др. После культивирования красного калифорнийского гибрида на смеси, состоящей из 40% осадков сточных вод, 30% биошрота, 20% свиного навоза и 10% некондиционных бакпрепаратов, получают *вермикомпост* — высококачественное органическое удобрение, обогащенное элементами питания растений и полезной микрофлорой с титром $4,5\text{--}6,2 \cdot 10^9$ клеток в 1 г абсолютно сухого вещества.

Красный дождевой червь имеет длину 6-100 мм, цвет темнокрасный, еженедельно дает 1-2 кокона, из которых приблизительно через 3 недели выводится от 2 до 20 червячков (из них в живых остается примерно 4). В оптимальных условиях при выращивании на определенных субстратах червь может еженедельно откладывать по 3-4 кокона. Потомство одного червя составляет в среднем 200-400 особей в год.

Для питания червей, которые чрезвычайно чувствительны к аммиаку, пригодны только частично разложившийся навоз. Допустимый уровень содержания аммиака 0,5 мг/кг субстрата. При более высоком содержании аммиака черви погибают, поэтому свежий навоз или навоз с мочой животных

для вермикультивирования не применяют.

В кишечнике червей происходит массовое размножение некоторых групп микроорганизмов, состав которых зависит от посдасмого субстрата, в частности, в копролитах червей стимулируется развитие грибов и бактерий. В вермикомпосте по сравнению с исходным органическим субстратом увеличивается численность агрономически полезных микроорганизмов аммонифицирующих, нитрифицирующих и целлюлозоразрушающих.

Субстрат для содержания червей может быть самым разнообразным. Можно использовать различные органические вторичные продукты. Основой любого рациона червей должен быть навоз, к которому добавляются в той или иной пропорции другие органические компоненты. Однако каждый компонент корма необходимо подвергать дроблению, помолу, размачиванию и, в конечном счете, процессам гниения и ферментации.

Конский навоз содержит значительное количество целлюлозы и потому удобен для стратификации и питания червей. Продолжительность процесса ферментации 5-6 мес.

Навоз крупного рогатого скота отличается высокой щелочностью и в смеси с 20-25% дробленой соломы после 6-8 месяцев ферментации представляет ценный субстрат для стратификации и питания червей.

Навоз молодых бычков по физико-химическим и питательным характеристикам аналогичен навозу взрослых коров. Однако следует иметь в виду, что при откорме бычков часто используют белковую пищу, а при содержании в навозе 40% протеина черви погибают.

Навоз овец также используют как субстрат для содержания червей, несмотря на то что он имеет высокую щелочность.

Свиной навоз широко используют для вермикультивирования. Но он имеет высокий уровень кислотности и содержит большое количество протеина. Поэтому к нему добавляют 30-40% соломы или картона, увеличивая продолжительность ферментации до 9-10 мес., и постоянно контролируют pH.

Куриный помет относится к высоко кислотным субстратам, поэтому к

нему необходимо добавлять солому или картон в отношении 1:1, ферментация длится 15-16 мес.

Не рекомендуется закладывать в ложе навоз, не прошедший до конца процесс ферментации, а также смешанный с мочой животных и хранившийся в навозохранилище более 2 лет после ферментации. Кроме того, в буртах необходимо поддерживать влажность 75-80% и следить за колебаниями температуры. Стабильная температура (температура окружающей среды) является показателем окончания ферментации и пригодности субстрата для кормления червей.

Во избежание излишнего перегрева компостируемой массы и выделения токсичных газов навоз рекомендуется укладывать слоями и с интервалом в две недели. Плотность заселения червями - 40-50 экземпляров при оптимальной влажности. В целях поддержания благоприятной для жизнедеятельности червей температуры (20-25°C) компост укрывают соломой, а в некоторых случаях пленкой.

При проектировании вермикомпостного хозяйства рассчитывается количество лож, на которых черви будут размножаться, необходимый объем пищи для червей, наличие источников водоснабжения.

Участки для буртования и ферментации субстрата должны находиться на территории хозяйства или вблизи него. Желательно также предусмотреть пути транспортировки субстрата к ложам.

Ложа лучше всего устанавливать на участках с определенным уклоном для обеспечения хорошего стока воды во время дождей и исключения образования луж. Подстилающая почва должна быть песчаной или каменистой, на ней не должно быть следов крота. Следует выбирать места, защищенные от ветра.

Ложа изготавливаются из металлической оцинкованной сетки с очками ячейками 15x15 мм. Площадь ложа 2x2 (2x1) м, высота 15-30 см. В таком ложе могут находиться 50-100 тыс. особей различного возраста и коконы с яйцами. Ложа размещаются секциями длиной до 50 м с расстоянием между ними 0,4-0,8

м. Две секции образуют сектор. Расстояние между секторами 2,5-3 м. Не исключается применение оригинальных конструкций, разработанных для конкретных условий.

В закрытых помещениях червей можно культивировать на бетонном полу (с устройством лож), на деревянных стеллажах, в металлических или пластиковых ящиках, располагая их этажами. В закрытых помещениях 1-2 м² площади дает в два раза больше товарной биомассы, чем на открытом воздухе. Значительно выше также выход органического удобрения.

Продукты личинок синантропных мух (опарышей). Переработка вторичных продуктов с использованием личинок некоторых видов синантропных мух позволяет предотвратить загрязнение среды и трансформировать навоз, птичий помет в полезные для человека продукты в 20 раз быстрее, чем это происходит в природе. Мухи высоко плодовиты, обладают быстрым темпом роста, развиваются в органических субстратах влажностью от 20 до 95% и при pH от 4,5 до 9,0. В нашей стране создана специальная популяция мух для утилизации органических отходов человека и животных.

В результате жизнедеятельности личинок значительно снижается бактериальная обсемененность утилизируемых продуктов. В процессе питания личинок мух исходный субстрат превращается в сыпучую дезодорированную массу - *биоперегной*. Это эффективное удобрение с высоким содержанием гумифицированного органического вещества, сбалансированного по содержанию азота, фосфора и калия. Внесение его в почву увеличивает урожай сельскохозяйственных культур в открытом и защищенном грунте, повышает иммунитет растений, ускоряет их рост и развитие, снижает инфекционный фон почвы и почвогрунтов. Используется также как основной компонент в компосте для выращивания шампиньонов. С каждой тонны навоза за 5 дней можно получить не менее 500 кг биоперегноя и до 200 кг биомассы насекомых.

Биомасса личинок используется как кормовая добавка в виде пасты, муки или гранулята взамен мясо-костной и рыбной муки. Содержит до 60% белка с полным набором аминокислот, в том числе и незаменимых, до 30%

легкоусваиваемого жира, до 20% углеводов, биологически активные соединения, витамины группы В, стимуляторы роста. Включение 11,5% биомассы личинок в рацион цыплят позволяет заменить до 40% пищевых продуктов (пшена, яиц). Биомасса используется также при откорме свиней, пушных зверей.

Помимо перечисленных продуктов, технология переработки навоза и птичьего помета личинками мух позволяет получать хитозан - биополимер из хитиновых оболочек личинок. Он может быть использован как сырье для фармацевтической промышленности, так как обладает способностью выведения радионуклидов из организма человека и животных, из воды и почвы. В медицине - как средство лечения некоторых видов лейкемии, как материал для саморассасывающихся нитей хирургических швов, контактных линз, а также для медицинских препаратов заживления ран, в том числе язвы желудка. Хитозан применяется при изготовлении особо ценных сортов бумаги на Госзнаке и в картографии.

Технология утилизации навоза с помощью личинок синантропных мух была известна более полувека назад (с 1937 г.). Технология утилизации нативного бесподстилочного навоза свиней при помощи комнатной мухи разработана под руководством академика Л. К. Эрнста. Однако, несмотря на ее высокую эффективность и ценность, широкого применения она не нашла ни в России, ни за рубежом.

Схема конструкции модуля по переработке вторичных продуктов с помощью личинок мух довольно проста, состоит из транспортной системы для перемещения поддонов с навозом или пометом, совмещенной с системой терmostатирования. Лотки располагаются в несколько этажей с максимальным использованием объема помещения; перемещение поддонов в лотки обеспечивает рациональное использование тепла для подогрева навоза или помета на первых этапах переработки. Установка снабжается блоком экологического контроля, что гарантирует экологичность производства.

Строительная площадка цехов утилизации по данной технологии, даже на

экспериментальных установках, не будет превышать 10-15% от площади животноводческой фермы.

Продукты простейших организмов и водорослей. Существуют технологии переработки органических субстратов и навоза животноводческих комплексов беспозвоночными животными, простейшими, микромакроводорослями и другими организмами.

Простейшие - это одноклеточные организмы, способные усваивать растворимые и нерастворимые питательные вещества в системах аэробной обработки сточных вод. Среди них встречаются жгутиковые, ресничатые и стебельковые ресничатые.

Очистные сооружения с активным илом дают крайне мутный сток. Эта мутность создается присутствием большого числа диспергированных частиц и бактерий. При добавлении в эти установки простейших ресничатых качественно стока повышается, снижается численность бактерий.

Простейшие жгутиконосцы и инфузории активно участвуют в процессе разложения органических соединений сточных вод. *Жгутиконосцы*, подобно бактериям, всасывают и перерабатывают органические соединения. Кроме того они питаются и самими бактериями. *Инфузории* - активные фильтраторы, также поглощающие бактерии. Этим они разрежают плотность бактериальной массы, стимулируют непрерывный процесс размножения бактерий и, омолаживая бактериальную флору активного ила очистных сооружений, активизируют ее деятельность.

Образование огромных масс малоконцентрированных жидкых стоков в значительной степени стимулировало интерес к применению *микроводорослей*. Биомассу водорослей можно использовать не только в качестве компонента кормов, но и как исходное сырье для производства пищевых продуктов, витаминов и других ценных веществ.

Недостатком микроводорослей и большинства фотобактерий является их весьма низкая способность потреблять полимеры: целлюлозу, гемицеллюлозу, лигнин, которые составляют основную массу сухого остатка вторичных

продуктов сельского хозяйства. В этом плане они явно проигрывают микроскопическим грибам, которые обладают мощными комплексами целлюлозолитических и лигнолитических ферментов, синтезируют как полный набор целлюлаз, так и отдельные ферменты, например ксиланазы, разрушающие аморфную целлюлозу или гемицеллюлозу.

Производство микроводорослей - простой, экологически чистый, энерго- и ресурсосберегающий процесс. В качестве основного источника сырья используются минеральные формы углерода (CO_2 , карбонаты), запасы которых практически не ограничены. Наиболее перспективны зеленая водоросль *хлорелла*, синезеленая водоросль *спирулита*, а также микроводоросль *дуналиелла*. Биологическая и питательная ценность их белков составляет 48-62%. В 1 кг биомассы водорослей содержится до 30 г р-каротина, 400 г глицерина и белка. По сравнению с традиционным растениеводством удельные затраты энергий на получение биомассы микроводорослей ниже в 3-4 раза. При производстве микроводорослей исключается загрязнение окружающей среды, в отличие от минеральных удобрений и пестицидов.

Выращивают водоросли в автотрофных и гетеротрофных условиях открытых водоемов, отстойников, на сточных водах или на установках непрерывного действия. В Европе (Чехия, Германия) культивирование синезеленых и зеленых микроводорослей находится на стадии теоретических разработок и небольших экспериментов, в Японии, Индии и на Тайване оно приобрело промышленный характер.

Водоросли имеют большое значение в водоемах, освещенных солнечным светом. Они почти не растут в очень мутной воде, например в установках с активным илом и в аэрируемых лагунах, куда солнечный свет не проникает или где жидкость имеет темную окраску. Конструкция окислительных прудов и их эксплуатация рассчитываются на равновесие между водорослями и бактериями. Первые используют двуокись углерода, соли аммония или нитраты и фосфаты и при фотосинтезе освобождают молекулярный кислород, который необходим бактериям в процессе обменного преобразования имеющихся органических

веществ. При отсутствии солнечного света фотосинтез прекращается, эндогенное дыхание водорослей продолжается таким же образом, как и бактерий.

Выращивание водорослей на жидкой фракции навозных стоков, сожалению, должно осуществляться в бассейнах с небольшой глубиной. Естественно, для крупных животноводческих комплексов потребуются громадные площади таких бассейнов, функционирование которых будет значительной степени зависеть от сезонных колебаний температуры освещенности. Выращивание же микроскопических грибов на плотной фракции навозных стоков, с одной стороны, не обеспечивает переработку жидкого фракции, а с другой - требует стерильного ведения процесса, что приводит значительному его удорожанию. В связи с этим, по нашему мнению наибольшего внимания в качестве агента биотрансформации навозных стоков заслуживают дрожжи.

Водный гиацинт (эйхорния), в отличие от микроводорослей, способен расти в сильно загрязненных водоемах, поглощая в больших концентрациях разнообразные водорастворимые органические и минеральные вторичные продукты. Это карантинный сорняк тропической зоны. Мощная корневая система растения, совмещенная с разнообразными микроорганизмами ризосфера и ризопланы в слизи корней, принимает активное участие в трансформации и утилизации загрязнений водных стоков. Культивируя водный гиацинт, можно создать энергосберегающий и эстетичный биологический фильтр для сбросных систем.

Использование отходов технических производств в кормлении животных

Производства по переработке пищевого сырья дают большое количество отходов, которые, в том числе и после биотехнологической модификации представляют определенную кормовую ценность для сельскохозяйственных

животных и птицы.

Крахмальное производство. При производстве крахмала из картофеля клубни растирают на терках в кашу. Далее из нее на ситах вымывают водой крахмал. При этом зерна крахмала проходят с водой через сито, а на сите остаются клеточные оболочки с небольшим количеством крахмала. Это мезга. Из 100 ц картофеля в среднем получается 75 ц мезги. Мезга содержит до 86 % воды, 10-12 % безазотистых экстрактивных веществ, немного клетчатки, протеина и золы. Мезгу скармливают в основном крупному рогатому скоту и свиньям в сыром или вареном виде от 10 до 30 кг в день. Возможно силосование мезги. Мезга влажностью 70-75 % силосуется хорошо, особенно с применением закваски из молочнокислых бактерий.

Спиртовое производство. Технологический процесс производства спирта состоит в осахаривании крахмала солодом и в переводе сахара в спирт при брожении под действием дрожжей. Результат брожения – зрелая бражка, из которой отгоняют спирт и в остатке получают барду. В среднем из сухого вещества сырья (крахмалистый продукт, солод и дрожжи) в барду переходит около трети. В зависимости от материала, взятого для приготовления спирта (картофель, рожь, кукуруза, патока), кормовое достоинство барды различно. Все виды барды содержат в свежем состоянии 92-94 % воды. Сухое вещество хлебной и картофельной барды богато белком (20-25 %), бедно жиром и клетчаткой, в небольшом количестве содержит свободные органические кислоты. Барда, получаемая при переработке на спирт патоки, отличается высоким содержанием небелковых азотистых соединений и минеральных веществ, особенно калия. Хлебную и картофельную барду используют преимущественно для кормления крупного рогатого скота. Взрослым животным дают 70-80 л барды в сутки, молочным коровам – 25-35 л, рабочим лошадям – 12-18 л. Скармливают барду обычно свежей, так как на воздухе она быстро закисает, покрывается плесенью, загнивает. Свежая барда содержит 0,4-0,5% свободных молочной и уксусной кислот, pH – 4,2-4,4. При такой активной кислотности барда может сохраняться, если ее изолировать от воздуха.

Консервируют барду путем силосования. Свежую барду с завода направляют по бардопроводу в ямы или траншеи, при этом жидкость уходит в почву или сливается после отстоя, а гуща остается в яме. Яму постепенно заполняют доверху сгущенной бардой. Для изоляции от воздуха над поверхностью осевшей гущи оставляют слой жидкости (около 15 см). В силосованной барде содержание сухого вещества повышается до 18-22 %. Барду можно силосовать с сухими кормами, например, с соломенной резкой.

Совместное культивирование молочнокислых бактерий и гриба *Lentinus tigrinus* на твердом осадке барды позволяет получить ценный продукт обладающий кормовыми свойствами. Однако он нестоек при хранении, и его приходится сушить. Сушка барды (в ней порядка 85-90% воды) является энергозатратным процессом. Поэтому предложен способ совместного выращивания гриба (3-суточная культура) и молочнокислых бактерий (10, КОЕ/мл) на твердом осадке послеспиртовой барды с кукурузной мукою. Получают выход сырой биомассы - около 12-17 г/100 г осадка барды. Для закваски берут 5% молочнокислых бактерий и 10% грибного инокулата. Добавление молочнокислых бактерий приводит к увеличению выхода суммарной биомассы по сравнению с монокультивированием гриба, что может быть связано с выделением бактериями в среду культивирования молочно-кислоты, в результате чего pH среды снижается. Грибы предпочитают именно кислые значения pH (4,2).

В результате совместное культивирование грибов и бактерий на твердом осадке барды позволяет получить не просто основу для приготовления кормового препарата, а продукт с пребиотическими свойствами. Одновременно решается проблема комплексной утилизации вторичных продуктов спиртовой промышленности — послеспиртовой барды, которая содержит необходимые питательные вещества для роста микроорганизмов (углеводы, аминокислоты, ростовые вещества).

Не менее ценное вторичное сырье молочной промышленности - пахта - спиртовой промышленности - барда - могут использоваться в микробно-

биосинтез как источники С и ростовых факторов.

Получают также белково-витаминный кормовой пробиотический продукт, отличающийся низкой себестоимостью, высокой питательной ценностью и антибактериальным действием. Для этого выращивают пропионовокислые бактерии при добавлении в среду солей кобальта и активизируют синтез витамина В. При этом пропионовокислые бактерии следует вносить в барду после 2-часовой предварительной инкубации лактобацилл. Количество живых клеток лактобацилл и пропионовокислых бактерий является достаточным для обогащения желудочно-кишечного тракта животного и хорошего усвоения кормового продукта.

Использование вторичных продуктов спиртовой и молочной промышленности в качестве питательной среды для культивирования *Xanthomonas campestris* позволяет получать дешевый ксантан (бактериальный полисахарид) с одновременной утилизацией вторичных продуктов биотехнологических производств.

Молочное производство. При сепарировании молока, производстве сметаны, сливочного масла, натуральных сыров, творога и молочного белка по традиционной технологии получают нормальные побочные продукты - обезжиренное молоко, пахту и молочную сыворотку. Это условно «вторичное молочное сырье». При производстве 1 т сливочного масла получают до 20 т обезжиренного молока и 1,5 т пахты; при производстве 1 т сыра и творога - до 9 т молочной сыворотки.

Общие ресурсы молочного сырья составляют около 70% объемов перерабатываемого молока и, по расчетам, ежегодно достигают в России 15-20 млн. т, что требует создания безотходных производств. В обезжиренное молоко, пахту и молочную сыворотку переходит от 50 до 75% сухих веществ молока. Обезжиренное молоко и пахта содержат практически весь белковый, углеводный и минеральный комплекс молока и частично молочный жир (5-14%).

Молочная сыворотка - нестойкое сырьё, которое необходимо либо

немедленно использовать, либо консервировать. Используют её для добавления в корма, получения напитков и лактозы, обогащения пищевых продуктов и полуфабрикатов, а также в качестве питательной среды для микроорганизмов при получении молочной кислоты, спирта, кормовых дрожжей и др. По статистическим данным, 48-88% получаемой во всем мире сыворотки идет на корм скоту, 0,5—4,0% — на технические и 7-52% — пищевые цели.

Состав молочной сыворотки заметно варьирует в зависимости от качества исходного сырья, характера готового продукта, способа отделения белка (сквашивание, ферментный способ). Наличие в сыворотке легкоусвояемых источников углерода (лактоза — молочный сахар, в меньших количествах глюкоза, галактоза и др.) и ростовых веществ позволяет считать перспективным сырьем в биотехнологических процессах.

На молочной сыворотке можно выращивать поверхностным и глубинным способами микроскопические грибы (*Penicillium roqueforti*, *Rhizopus oligosporus*, *Morchella* и др.). В Канаде разработан способ выращивания культуры сморчков с выходом биомассы гриба около 25-26 г/л. Известны способы получения кормовых биомасс на основе смешанной культуры микроскопических грибов и бактерий (*Lactobacterium*, *Pseudomonas*, *E. coli*, *Candida utilis*, *Brettanomyces anomalus* и др.). При культивировании дрожжевых микроорганизмов на сыворотке необходимо внесение дополнительных источников азота в виде мочевины, сернокислого аммония и амиака в количестве до 1%, что способствует повышению содержания белка в дрожжах в 2-4 раза.

Из всех известных микроорганизмов самым высоким коэффициентом конверсии белка сыворотки в микробный белок обладают дрожжи. Способность к ассимиляции лактозы имеется примерно у 20 % всех известных видов дрожжей. Гораздо реже встречаются дрожжи, сбраживающие лактозу. Активный катаболизм лактозы особенно характерен для дрожжей рода *Kluyveromyces*. Эти дрожжи можно использовать для получения на молочной

сыворотке кормового белка, этанола, препарата В-глюкозидазы

Разработаны способы получения микробных продуктов, основанные на использовании лактозы как монокультурой, так и смесью дрожжей и бактерий. В настоящее время используют дрожжи родов *Candida*, *Trichosporon*, *Torulopsis*. Молочная сыворотка с выросшими в ней дрожжами по биологической ценности значительно превосходит исходное сырьё и её можно использовать в качестве заменителя молока.

Перечень микроорганизмов и процессов получения белка одноклеточных из молочного сырья не является исчерпывающим. Однако практическая реализация принципов безотходной технологии в молочной промышленности сводится к использованию «вторичного молочного сырья» и производству нового поколения кисломолочных продуктов за счёт молочнокислых бактерий.

Дрожжесывороточный концентрат. Разработаны технологии биоконверсии молочной сыворотки дрожжами для получения продуктов, используемых на пищевые и кормовые цели. В большинстве случаев это сухие продукты, технологии получения которых включают *сгущение и распыление*. Более экономичным является получение жидких концентратов *дрожжесыворотки* или *дрожжесывороточного концентрата* за счёт биоконверсии творожной сыворотки.

В качестве продуцента используется штамм *Kluveromyces marxianus*, характеризующийся высокой скоростью роста, активной утилизацией лактозы и синтезом большого количества аминокислот. Биомасса дрожжей составляет 50% от веса дрожжесывороточного осадка, который при этом содержит повышенные концентрации незаменимых аминокислот: лейцина, фенилаланина, треанина; содержание серосодержащей аминокислоты метионина снижается, а цистина - увеличивается на 40% по сравнению с контрольной сывороткой.

Изменения аминокислотного состава получаемого дрожжесывороточного концентрата связаны с особенностями аминокислотного состава белков данных дрожжей, в отличие от пивных и кормовых дрожжей. Концентрат

рекомендуется использовать для приготовления комплексных кормовых добавок или для непосредственного введения в рацион животных.

Пивоваренное производство. Производство пива слагается приготовления солода, варки сусла и его сбраживания. Солод готовят ячменя. При этом зерно намачивают и проращивают в течение 7-10 дней. Проросшие зерна ячменя – зеленый солод – высушивают, с них удаляют ростки, которые содержат вещества, ухудшающие вкус пива. При высушивании ростки становятся хрупкими и легко сбиваются трением зерен друг о друга вращающимся цилиндре. Отбитые ростки отделяют просеиванием на ситах, используют как кормовое средство под названием солодовые ростки. Солодовые ростки содержат около 11 % воды, до 24 % сырого протеина. По общей питательности солодовые ростки значительно уступают зерну отрубям. Солодовые ростки содержат бетаин и холин. Они придают продукту слегка горьковатый вкус, из-за которого животные не всегда сразу и охотно едят данный корм, но постепенно к нему привыкают. Скармливают ростки размоченными, в виде густой каши молочным коровам, молодняку и свиньям.

Пивная дробина в сыром виде содержит около 75 % воды. Ее сухое вещество состоит из плодовых и зерновых оболочек и прочих остатков ячменя, нерастворимых в воде. Так как на приготовление пивного сусла идут углеводы зерна, то сухое вещество пивной дробины значительно богаче протеинами (около 25 %), чем исходный материал. Свежую пивную гущу по 12-16 кг сутки скармливают молочному скоту, свиньям. При хранении пивная гуща быстро портится. На крупных заводах свежую пивную дробину иногда сушат. Сушеная дробина является хорошим концентрированным кормом. Она близка по составу и общей питательности к пшеничным отрубям.

Пивные дрожжи – ценный кормовой продукт пивоваренного производства. В свежем виде они содержат около 85 % воды. В сухом веществе около 50 % составляет протеин. Сухие дрожжи занимают первое место среди кормов по содержанию легкопереваримого белка. Белок дрожжей по биологической ценности считают близким к животным белкам. Дрожжи служат

источником витаминов комплекса В. В дрожжах содержатся ферменты (протеазы, нуклеазы и др.), которые возбуждают аппетит животных. Сырые дрожжи дают молочному скоту по 10-20 кг в сутки, свиньям – 1-5 кг. Сухие дрожжи считаются хорошим кормом для всех животных, особенно для свиней: свиньям дают 200-600 г в день, молочным коровам – до 2 кг.

Свеклосахарное производство. При производстве сахара свеклу измельчают в тонкие стружки, которые загружают в большие сосуды – диффузоры. Там из свекольной стружки сахар вымывается горячей водой. Получается диффузионный сок, который идет на дальнейшую переработку. В диффузорах остаются диффузионные остатки, или жом. Диффузионный сок сгущают увариванием в вакуум-аппаратах, пока из него не выкристаллизуется сахар. Получается густая масса – утфель. Она состоит из кристаллов сахара и светло-буровой липкой жидкости – патоки. Сахар от патоки отделяют в центрифугах. При этом последовательно получается сахарный песок разных сортов: от желтого до белого. Стекающая с желтого песка густая темная патока, содержащая труднокристаллизующийся сахар, является отходом производства и продается с заводов как кормовой продукт. Таким образом, кормовая патока является сгущенным и в значительной степени обессахаренным свекловичным соком. Свежий жом содержит до 93 % воды. Его сухое вещество состоит преимущественно из углеводов, хорошо переваримо. По общей питательности жом близок к наиболее водянистым корнеплодам. Жом очень беден фосфором, в нем отсутствуют витамины А и D. Содержание кальция удовлетворительное. На заводах жом складывают в ямы, где он подвергается самозаквашиванию. Улучшить качество такого корма и снизить потери питательных веществ можно частичным обезвоживанием жома (до влажности 70-75 %), внесением чистых культур молочнокислых бактерий, устройством хороших ям и тщательной изоляцией жома от воздуха. Кислый жом богаче свежего сухим веществом (около 12 %) и содержит много органических кислот. Он охотнее поедается скотом, чем сладкий свежий. Некоторые заводы сушат жом, снижая содержание воды в нем до 10-12 %, такой продукт хорошо хранится, но беден белком (3,6

%) и поэтому не может заменить концентрированные корма (отруби, жмыхи, зерно). Как свежий, так и кислый жом используют для откорма скота: в среднем в сутки животные могут получать 50-60 кг продукта, сушеного жома дают молочным коровам 4-6 кг в зависимости от удоя.

Продукты переработки кожевенных производств. Вторичные продукты кожевенной промышленности по химическому составу бываю жироодержащие и коллагенсодержащие. Они отличаются большим разнообразием по виду и составу: золеная и незоленая мездра.

В зависимости от вида шкур, породы животного, их предубойного содержания и других факторов мездра содержит до 80% воды, 1-7 - жира, 5-10 белка, 2-3% минеральных веществ. Золеная мездра содержит большее количество белка, но меньше жира. В состав мездры входят аминокислоты и 35% коллагена.

Жироодержащие компоненты, получаемые при строгании свиных шкур на кожсырьевых базах, накапливаются в больших количествах в виде кожевенной стружки, обрези кожи, краевых участков шкуры и др.

Они могут быть использованы для производства:

-желатинов, кормовых добавок, технического жира, мездрового клея аминокислот, гидролизатов белка, капролона, белковой колбасной оболочки наполнителя для кожи и т. д.

- клеевой пасты, искусственной кожи, клея малярного, удобрения, водные нитроцеллюлозных дисперсий, пены для тушения пожаров, связующих лаков, замазок, кормовой добавки и т. д.

Из 15 т вторичных продуктов получают 1 т муки и 1,5 т жира, которые используют как белковую массу в животноводстве, а при обеззоливании обезжиривании и обезвоживании белковые вещества идут на корм скоту. Продукте содержится большое количество витамина В₁₂, что ускоряет рост молодняка. На кожевенных заводах при переработке кожевенных материалов клей, кормовые добавки и другие продукты, перечисленные выше, используют достаточно простые технологические процессы и стандартное для дан-

отрасли оборудование.

Однако вторичные продукты кожевенной промышленности содержат много вредных веществ, использующихся при консервировании шкур животных и переработке их в кожу. Химические способы извлечения этих веществ из обрезков кожи требуют много времени, большое количество воды и дефицитных химических реагентов. Процесс переработки этих отходов ускоряется в 20-25 раз под действием ультразвука и занимает 3-4 ч. При таком воздействии смесь вторичных продуктов с раствором интенсивно перемешивается, вредные вещества быстро вымываются в раствор, а сама кожа разрывается, что значительно повышает ее переваримость и кормовую ценность. Высушенная и измельченная кормовая добавка содержит около 70% ценного белка и 15-17% жира. Ее применение вместе с традиционными кормами заметно повышает продуктивность животных.

Основной белок кожи – коллаген также выделяют из вторичных продуктов кожевенного сырья в виде густой вязкой массы, которую можно использовать как основу для лекарственных препаратов. Добавление нужных лекарственных препаратов в эту массу позволяет получать мази, гели, растворы для инъекций, которые улучшают и пролонгируют действие лекарства.

Биоферментированный пух-перо. Вторичные продукты пухоперерабатывающих предприятий могут служить составным компонентом ценного органического комплексного удобрения и одновременно снижать негативное воздействие на окружающую среду при их утилизации. Компосты из пухо-перовых остатков повышают биологическую активность почвы, ее микробное разнообразие и общую численность микроорганизмов, особенно при внесении CaCO_3 . По некоторым данным, увеличивается не только содержание органического вещества в почве, но и микроорганизмов, деградирующих *кератин* (основное вещество пухо-перовых производств, не растворимое в воде и содержащее структурные белки, высоко устойчивые к протеолизу). Процесс деградации осуществляется за счет отщепления аминокислотных остатков от С - и N - концов белка, привнесенного с пухо-перовыми отходами. Кератиновые

образования, в том числе и перья, способны поглощать большое количество воды, но кератин подвергается гидролизу только под действием кератиназы. Данный вид отходов имеет очень малую объемную массу и высокую степень летучести.

Кератин служит также отличным сырьем для получения целой группы новых материалов - *кератинов*. Это упругие губки или пленки, состоящие из переваримого кератина и лекарственных веществ. Они весьма эффективны для лечения ран, язв, ожогов. Кератиновый порошок может быть основой для мазей, кремов, шампуней, кормовой добавки с набором незаменимых аминокислот.

Новые технологии в пухоперерабатывающей промышленности не только обеспечивают появление дешевых безвредных материалов, лекарственных препаратов из отходов, но и решают ряд экологических проблем.

Коллагенсодержащее сырье - продукт переработки рыбной промышленности. Коллагенсодержащее сырье (чешуя, кожа, кости и др.) получаемое после разделки гидробионтов и составляющее около 10-25% от массы, для пищевых целей практически не используется. Его можно использовать как компонент, заменяющий 30-45% рыбной муки в комбикорме для рыб, пушных зверей и других животных. Это богатый источник коллагеновых белков и минеральных веществ.

Вопросы для самоконтроля:

- 1) Использование отходов крахмального производства в кормлении сельскохозяйственных животных.
- 2) Какие отходы спиртового производства представляют кормовую ценность?
- 3) Использование отходов молочного производства в кормлении сельскохозяйственных животных.
- 4) Какие кормовые продукты дает пивоваренное производство?
- 5) Какие отходы свеклосахарного производства являются кормовыми

продуктами?

- 6) Продукты переработки кожевенных производств.
- 7) Новые технологии в пухоперерабатывающей промышленности

Тема 8. БИОЛОГИЧЕСКИЕ СПОСОБЫ ПОВЫШЕНИЯ УРОЖАЙНОСТИ КОРМОВЫХ КУЛЬТУР

Бактериальные удобрения

Удобрения – это вещества, которые улучшают питание растений и свойства почвы. Ежегодно во всем мире в почву в виде минеральных удобрений вносится около 60 млн. т азота, фосфора, калия. Они накапливаются в почве и грунтовых водах, отрицательно влияют на состояние микробного сообщества почвы, вызывают потерю гумуса, нитратное загрязнение кормов и продуктов питания, рост онкологических заболеваний животных и человека. Например, хлористые, сернистые, азотные соединения повышают кислотность воды и почвы.

Альтернативой химизации сельского хозяйства являются естественные, биологические технологии. В этом отношении перспективным является использование микробных землеудобрительных препаратов, или бактериальных удобрений. Бактериальные удобрения содержат монокультуру или комплекс микроорганизмом, которые способствует накоплению в почве элементов питания растений, стимулируют их рост и развитие, обладают антагонистической активностью по отношению к фитопатогенам.

Преимущества бактериальных удобрений перед химическими средствами:

- поддержание и сохранение окружающей среды;
- получение экологически чистой продукции;
- сохранение всех взаимосвязей и цепей биосфера, созданных природой;
- биологизация землемеделия;

- восстановление плодородия почвы и пр.

В 1888 г. М. Бейеринк выделил чистую культуру клубеньковых бактерий *Rhizobium* бобовых растений. После этого стали производиться первые микробные землеудобрительные препараты.

В настоящее время известны следующие бактериальные удобрения:

- а) препараты на основе симбиотических азотфикссирующих бактерий (нитрагин, ризоторфин);
- б) препараты на основе несимбиотических азотфикссирующих бактерий (флавобактерин, ризоэнтерин, агрофил, ризоагрин, азотобактерин, ризобактерин, экстрасол и др.);
- в) фосфоробактерин;
- г) биологически активный грунт АМБ;
- д) грибы-микоризообразователи.

Нитрагин и ризоторфин производятся на основе активных жизнеспособных бактерий из рода *Rhizobium*. Они усваивают азот атмосферы, переводят его в связанную форму, которая доступна для питания растений. Растения снабжают бактерии энергией, которая необходима для фиксации азота. Таким образом, возникает симбиоз бактерий и бобовых культур. Это обеспечивает благоприятные условия азотного питания и повышение урожайности. Фиксация атмосферного азота возможна только в клубеньках, которые образуются на корнях растений.

Выпускается два вида нитрагина – почвенный и сухой.

Почвенный нитрагин впервые был получен в 1911 году на бактериальной агрономической станции в Москве. В настоящее время его производство ограничено из-за сложной и трудоемкой технологии.

Более перспективен сухой нитрагин. Это высушенная биомасса жизнеспособных бактерий в смеси с наполнителем (тиомочевина и мелас). При использовании нитрагина повышается урожайность бобовых растений – 15-20%, в растениях увеличивается содержание белка – на 3-5%.

В 1973-1977 г.г. была создана технология торфяного препарата

клубеньковых бактерий – ризоторфина. При этом торф сушат, размалывают в порошок, нейтрализуют мелом, стерилизуют облучением гамма-лучами, увлажняют до 30-40% и расфасовывают в полиэтиленовые пакеты. Затем его облучают и заражают клубеньковыми бактериями с помощью шприца.

Ризоторфином обрабатывают семена бобовых культур (гороха, люпина, сои, люцерны, клевера и др. при посеве).

Флавобактерин и ризоэнтерин усиливают поглотительную способность корней, что улучшает минеральный и водный обмен растений, стимулирует рост растений, являются антагонистами микроорганизмов-фитопатогенов. Повышают в продукции содержание сырого белка – на 1,5-2%, аскорбионовой кислоты – на 15-20%.

Азотобактерин – бактериальное удобрение, содержащее свободно-живущий почвенный микроорганизм азотобактер – *Azotobacter chroococcum*. Азотобактер способен усваивать до 10-15 кг атмосферного азота в год на 1 га пахотного слоя земли. Большое количество белкового азота появляется в почве при отмирании бактерий.

Эти бактерии выделяют биологически активные вещества (никотиновую и пантотеновую кислоты, пиридоксин, биотин, гетероауксин, гиббереллин и др.), которые стимулируют рост растений; фунгицидные вещества, которые угнетают развитие некоторых нежелательных микроскопических грибов в ризосфере растения.

Азотобактер способствует поступлению в растения соединений фосфора; стимулирует развитие почвенной микрофлоры, которая необходима для корневого питания; он использует корневые выделения, продукты распада растительных остатков и соединений, образующихся в результате минерализации перегноя в качестве дополнительного источника углерода и энергии.

Выпускается несколько видов азотобактерина: сухой, почвенный и торфяной.

Сухой азотобактерин – это активная культура высушенных клеток

азотобактера с наполнителем. В 1 г препарата содержится не менее 0,5 млрд. жизнеспособных клеток.

Почвенный и торфяной азотобактерин представляют собой активную культуру азотобактера, размноженную на твердой питательной среде. В 1 г содержится не менее 50 млн. жизнеспособных клеток.

Азотобактерин применяют для обработки семян, рассады, компостов. При этом урожайность увеличивается на 10-15%.

Ризобактерин - создан на основе штамма *Klebsiella planticola* S. C обладает высокой азотфикссирующей активностью, продуцирует индолилуксусную кислоту и подавляет развитие корневых фитопатогенов. Ризобактерин повышает урожайность зерновых культур в среднем на 23%.

Экстрасол - содержит индивидуальные штаммы или несколько видов ризосферных азотфиксирующих бактерий и их метаболиты, которые предназначены для данного вида или сорта растений, что определяется экспериментальным путем. Представляет собой сухую или увлажненную массу или бактериальную суспензию. В 1 г содержится не менее 100 млн. бактериальных клеток.

Экстрасол улучшает поступление элементов питания в растения, увеличивает энергию прорастания семян, ускоряет развитие растений, снижает поражаемость растений фитопатогенными микроорганизмами. Несимбиотическую азотфиксацию можно усилить внесением в почву ассоциативных азотфиксирующих бактерий и микоризных грибов, цианобактерий и водного папоротника.

Фосфорбактерин - порошок светло-серого или желтоватого цвета, содержит споры капустной палочки *Bacillus megaterium* var. *phosphaticum*. Эти бактерии превращают сложные фосфорорганические соединения (нуклеиновые кислоты, нуклеопротеиды и т.д.) и трудноусвояемые минеральные фосфаты в доступную для растений форму; вырабатывают биологически активные вещества (тиамин, пиридоксин, биотин, пантотеновую и никотиновую кислоты и др.), стимулирующие рост растения.

Фосфоробактерин эффективен на богатых органикой почвах и благоприятно действует на корневую систему, его рекомендуют для улучшения роста кустарников и древесных растений.

Биологически активный грунт АМБ (автохронная микрофлора «Б») используется при создании грунта в теплицах и парниках для выращивания овощных культур и рассады, а также для активации биохимических процессов северных почв (автохронная микрофлора «Б»). В АМБ входят бактерии, разлагающие белки и белково-подобные соединения, фосфорсодержащие органические соединения, целлюлозолитические, азот-фикссирующие, нитрифицирующие бактерии и др.

Технология удобрения АМБ сложная и громоздкая. При этом в кислый торф вносят известковый материал, минеральные добавки и маточную культуру АМБ из расчета 1-2 кг/т, затем идет созревание грунта на местах его использования. Расход АМБ – до 500 кг/т.

Грибы-микоризообразователи улучшают водообеспечение и минеральное питание растений, продуцируют биологически активные вещества (витамины, фитогормоны, антибиотики), противостоят фитопатогенным микроорганизмам. Так, полевые культуры образуют нормальную микоризу самостоятельно.

Микоризация используется при инокуляции семян и саженцев древесных пород. Грибы-микоризообразователи трудно культивировать искусственно, поэтому для микоризации чаще применяют лесную почву, которая содержит споры и мицелий таких грибов.

Гормоны растений (фитогормоны)

Растительные гормоны, или фитогормоны – это химические вещества, вырабатываемые в растениях и регулирующие их рост и развитие. Имеют следующие особенности: эндогенное происхождение – образуются из органических кислот, в частности, из аминокислот; действуют не только в местах образования, но и на расстоянии от них, т.е. транспортируются по растениям; действуют в малых концентрациях.

Фитогормоны менее специфичны, чем гормоны животных, проявляют однотипное действие на одни и те же метаболические процессы: растяжение клеток или подавление их роста за счет торможения ионного транспорта; влияние на синтез ферментов и их активность; изменение проницаемости мембран растительных клеток; активация или ингибирование процессов биосинтеза РНК и белка.

В настоящее время известно семь групп фитогормонов: ауксины, гиббереллины, цитокинины, абсцизовая кислота, этилен, брацисиостероиды, физикокциины.

Ауксины были открыты в 20-е годы XX века как фактор тропизма растений. Химическая природа – индолил-3-уксусная кислота (ИУК). Стимулируют образование корневой системы у черенков, применяют при выращивании плодовых деревьев – для удаления избыточных завязей, при выращивании зерновых культур – для уничтожения сорняков.

Гиббереллины были открыты в 1926 г. В 1938 г. в Японии они были выделены как продукты патогенного гриба *Gibberella fujjuroi*, который вызывает чрезмерный вегетативный рост риса. Химическая природа дитерпеноиды, состоящие из четырех изопреновых остатков. Известно около 13 представителей, в т.ч. 45 – выделены из растений. Применяют для повышения урожайности некоторых сортов винограда, для защиты ягод от фитопатогенных грибов. Способны выводить семена и клубни из состояния покоя.

Цитокинины были открыты в 1955 г. как факторы, стимулирующие деление клеток. Известно 13 представителей. Химическая природа производные 6-аминопурина. Задерживают старение листьев, регулируют формирование хлоропластов, повышают устойчивость клеток растений к неблагоприятным воздействиям (повреждающим температурой, недостатком воды, повышенной засоленности, рентгеновскому излучению, воздействию пестицидов). Способны выводить семена и клубни из состояния покоя.

Этилен – бесцветный газ, растворимый в воде. В 1901 г. Д.Н. Нелюбов Петербургского университета сообщил о том, что этилен, входящий в сост-

светильного газа, стимулирует опадение листьев и нарушает фототропизм проростков гороха. В 1934 г. этилен был обнаружен в газообразных выделениях хранящихся яблок. Это послужило основанием для того, чтобы считать его фитогормоном. Его синтезируют грибы и высшие растения.

По мере старения тканей синтез этилена увеличивается. Этот гормон стимулирует процессы опадания листьев и плодов. Этилен и его производные применяют для ускоренного созревания плодов. Разработан препарат *эстрел*, который при попадании в растение выделяет этилен.

Эстрел применяют для регуляции созревания томатов, вишен и других овощей и фруктов. Стимулирует образование абсцизовой кислоты.

Абсцизовая кислота (АБК) выделена в 1964 г. из молодых коробочек хлопчатника. Химическая природа – секвiterпен, синтезируется из мевалоновой кислоты во всех органах растений. Является антагонистом других фитогормонов. Обладает мощным ингибиторным действием – ускорят распад нуклеиновых кислот, белков, хлорофилла. Инициирует синтез стрессовых белков. Они ответственны за обезвоживание семян, что обеспечивает их покой.

Брацисностероиды. Химическая природа – стероиды. Регулирует рост семяпочки, стимулирует ее развитие и образование семян; стимулируют устойчивость к стрессам и грибным заболеваниям.

Фузикокцины. Химическая природа – стероиды. Выводят семена из состояния покоя, ускоряет их прорастание. Фитогормоны активно влияют на синтез, распад и транспорт друг друга. Поэтому изменение уровня одного фитогормона приводит к изменению всех фитогормональной системы.

Биологические способы защиты растений

В качестве дополнения или альтернативы пестицидам возможно использование естественных врагов вредителей (паразитов и хищников, в том числе микроорганизмов). Установлено, что многие виды насекомых-вредителей погибают под влиянием соответствующих энтомопатогенных препаратов.

Впервые энтомопатогенные микроорганизмы (мускаридинный гриб) попытался применить И.И. Мечников против хлебного жука – он собирали и разбрасывали больных личинок. В настоящее время производится более 100 микробиологических энтомопатогенных препаратов. Они специфически поражают определенные виды насекомых, практически безвредны для человека, теплокровных животных, птиц и полезных насекомых, не вызывают нежелательных изменений в биоценозах и не нарушают экологию.

Отечественная промышленность выпускает три группы энтомопатогенных препаратов:

1. Бактериальные препараты на основе *Bacillus thuringiensis* (энтобактерин, алецин, экзотоксин, дендробациллин и др.). Они наиболее эффективны против листогрызуших вредителей. Например, энтобактерин предназначен для борьбы с садово-огородными вредителями, эффективен против 60 видов насекомых. При его производстве используют штаммы, которые образуют *l*-токсин. Он представляет собой белковый восьмигранник.

При попадании в кишечник насекомых токсин растворяется в щелочной среде и частично гидролизуется протеазами. Такой модифицированный белок взаимодействует со стенкой кишки, в результате чего содержимое кишечно-тракта попадает в кровоток насекомых. Это вызывает паралич насекомых. Токсин безвреден для млекопитающих животных, человека, птиц.

Применяют путем опрыскивания растений водной эмульсией в период активного роста вредителя. Основная масса вредителей погибает в течение 2-3 дней.

2. Грибные препараты. К ним относят: боверин на основе гриба *Beauveria bassiana*, вертициллин на основе гриба *Verticillium lecanii*. Грибы обладают рядом особенностей: поражение происходит не через пищеварительный тракт, а через кутикулу; насекомые поражаются в фазе развития куколки; грибы обладают большой скоростью роста и репродуктивной способностью; в виде спор в природных условиях длительно не снижают энтомопатогенную активность; обладают высокой специфичностью в поражении отдельных видов.

Споры гриба проникает в полость тела насекомого, где прорастает в гифу, после она разрастается в мицелий, от которого отчленяются конидии. Они паразитируют в гемолимфе, выделяя токсины. Если токсина мало или он отсутствует, то мицелий заполняет все тело насекомого, в первую очередь, мышечную ткань. Например, боверин применяют против листогрызущих вредителей сада, яблоневой и восточной плодожорки, вредителей, личинок белокрылого жука на картофеле. С добавлением химических инсектицидов применение препарата приводит к 100% гибели личинок всех возрастов.

3. Препараты на основе вирусов ядерного полиэдроза. К ним относят: вирин-ЭНШ (вирус ядерного полиэдроза непарного шелкопряда), вирин-ЭКС (вирус ядерного полиэдроза капустной совки), вирин-КШ (вирус ядерного полиэдроза кольчатого шелкопряда). Такие препараты обладают высокой специфичностью по отношению к насекомому-хозяину, поэтому они практически безвредны для человека, флоры и фауны. Вирусы устойчивы к неблагоприятным воздействиям окружающей среды (температуре, влажности). Вне насекомого они могут сохранять активность в течение 10-15 лет.

Заражение вирусом происходит при питании насекомого. В кишечнике при щелочных значениях pH освобождаются вирионы. Они проникают через стенку кишечника, а в ядрах восприимчивых клеток осуществляется их репликация. Это приводит к гибели личинок насекомого.

Комбинации нескольких биологических средств оказываются, как правило, более эффективными, чем отдельно взятые препараты.

Для защиты растений от фитопатогенных микроорганизмов применяют следующие средства:

Антибиотики. Например, грибы *Trichoderma* sp. и *Trichotecium roseum* продуцируют триходермин и трихотецин, которые используют для борьбы с корневыми гнилями овощных, зерновых и технических культур.

Фитоалексины. Они синтезируются в тканях растений в ответ на внедрение фитопатогенов и являются высокоспецифичными заменителями

пестицидов. Например, фитоалексин перца применяют при фитофторозе.

Микрофаги-антагонисты. Они вытесняют патогенный вид и подавляют его развитие.

Вакцины и иммунологические препараты. Их вводят в прорастающие семена.

Фиторегуляторы

Возможность использования фиторегуляторов в борьбе с вредителями болезнями сельскохозяйственных растений была показана на рубеже 40-50-х годов XX века. При их применении повышение устойчивости растений вредоносным организмам обусловлено следующими причинами:

- препарат является токсином для какого-либо паразита;
- улучшаются морфологические показатели и общее состояние растения, это делает его менее уязвимым для атаки вредителями и болезнями;
- изменение метаболизма растения-хозяина неблагоприятно для паразита;
- изменение фазы развития растения-хозяина относительно фазы паразита ведет к сокращению периода питания, а, следовательно, и снижению вредоносного действия.

Вредители и возбудители заболеваний оказывают регуляторное действие на растение-хозяина, создавая тем самым для себя благоприятные условия. Многие паразитические организмы синтезируют аналоги цитокининов, обогащают ими зараженные клетки и тем самым обеспечивают приток к месту своего развития питательных веществ из других частей растения. Эти участки остаются «зелеными островками» на пожелтевших листьях. Такие же «зеленые островки» на листьях образуют личинки насекомых, паразитическое растение повилика.

Показано, что насекомые нуждаются для своего развития в некоторых гормонах растений, которые в организме насекомого превращаются в их собственные регуляторные вещества. Так, фитогормон брассинолид ускоряет

время наступления линьки насекомых. В связи с этим предложено использовать гормоны растений или близких по строению вещества как нового поколения инсектицидов.

При использовании этих препаратов снижение численности насекомых наступает не за счет блокирования какого-либо звена метаболизма, а за счет изменения времени наступления метаморфоза или влияния на половое созревание.

В ходе эволюции растения выработали собственную систему защиты. Так, под действием повреждений, вызываемых вредителем или патогеном, усиливается биосинтез этилена. Он распространяется во всем растении и разносится ветром. При этом в растении:

- 1) стимулируется образование фитоалексинов. Это вещества, выполняющие роль антибиотиков у растений;
- 2) повышается активность хитиназы. Это фермент, разрушающий пищеварительный тракт насекомых или хитиноподобное вещество, из которого состоят стенки гифов патогенных грибов, после чего их протопласти лизируются ферментами растительной клетки;
- 3) стимулируется синтез другого фитогормона – абсцизовой кислоты. Она затормаживает процессы роста и деления клеток и стимулирует синтез стрессовых белков.

Вопросы для самоконтроля:

- 1) Преимущества бактериальных удобрений перед химическими средствами повышения урожайности растений.
- 2) Какие группы бактериальных удобрений Вам известны?
- 3) Дайте характеристику бактериальных удобрений на основе активных жизнеспособных бактерий из рода *Rhizobium* (нитрагин и ризоторфин).
- 4) Дайте характеристику бактериальных удобрений, содержащих свободно-живущий почвенный микроорганизм азотобактер – *Azotobacter chroococcum* (флавобактерин и ризоэнтерин).
- 5) Дайте характеристику бактериальных удобрений ризобактерина и

экстрасола.

- 6) Дайте характеристику бактериального удобрения фосфоробактерина, содержащего споры капустной палочки *Bacillus megaterium* var. *phosphaticum*.
- 7) Дайте характеристику биологически активного грунта АМБ.
- 8) Какова роль грибов-микоризообразователей в повышении урожайности растений?
- 9) Какие биологические способы защиты растений Вам известны?
- 10) Охарактеризуйте группу бактериальных энтомопатогенных препаратов на основе *Bacillus thuringiensis* (энтобактерин, алестин, экзотоксин, дендробациллин и др.).
- 11) Охарактеризуйте грибные энтомопатогенные препараты (боверин и вертицилидин).
- 12) Охарактеризуйте препараты на основе вирусов ядерного полиэдроза.
- 13) Какие еще биологические способы защиты растений Вы знаете?
- 14) Роль фиторегуляторов в системе защиты растений.

СПИСОК ИСПОЛЬЗУЕМОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Елинов, Н.П. Основы биотехнологии / Н.П. Елинов. – СПб.: Наука, 1995.
2. Кияшко, Н.В. Основы сельскохозяйственной биотехнологии: учебное пособие / Н.В. Кияшко; ФГБОУ ВПО «Примор. гос. с.-х. акад.». – Уссурийск: ПГСХА, 2014. – 110 с.
3. Комплексная программа развития биотехнологий в Российской Федерации на период до 2020 года [Электронный ресурс]: утв. Правительством РФ от 24 апр. 2012 г. № 1853п-П8.- Электрон. текст. дан.- Режим доступа: <http://www.garant.ru/products/ipo/prime/doc/70068244/#ixzz5ZXR8duGq>.- Загл. с экрана.
4. Куватов, Д.М. Биотехнология кормопроизводства /Д.М. Куватов, В.Л. Касперович, А.П. Иванова. – Уфа.: Гилем, 2003. – 196с.
5. Марченко, Г.Г. Гибридизация животных / Г.Г. Марченко, О.И. Бирюков, Т.С. Преображенская. – Саратов: ФГОУ ВПО «Саратовский ГАУ», 2008. – 84 с.
6. Никульников, В.С. Биотехнология в животноводстве: учеб. пособие / В.С. Никульников, В.К. Кретинин. – М.: Колос, 2007. – 544 с.
7. Рабочие материалы к стратегии развития биотехнологической отрасли промышленности до 2020 года [Электронный ресурс] / Общество биотехнологов России им. Ю.А. Овчинникова; Союз предприятий биотехнологической отрасли. – Электрон. текст. дан.- М., 2009. – 85 с. – Режим доступа: http://www.biorosinfo.ru/papers-society/Strategy_Bioindustry.pdf.- Загл. с экрана.
8. Рыженко, О.В. Кормопроизводство на Дальнем Востоке России/ О.В. Рыженко. – Уссурийск, 2012. – 188 с.
9. Рыженко, О.В. Производство кормов в Приморском крае / О.В. Рыженко. – Уссурийск, 2010. – 157 с.
10. Сельскохозяйственная биотехнология / под ред. В.С. Шевелуха [и др.].- М.: Высшая школа, 2003. – 427 с.

11. Сельскохозяйственная биотехнология и биоинженерия: учебник / ред. С. Шевелуха. - 4-е изд., знач. перераб. и доп. - М.: URSS, 2015. - 704 с.
12. Сидоренко, О.Л. Биоконверсия вторичных продуктов агропромышленного комплекса: учебник /О.Л. Сидоренко. – М.: ИНФРА-М, 2017. – 296 с.
13. Тенденции развития промышленного применения биотехнологий Российской Федерации [Электронный ресурс] / Институт биохимии и биотехнологии им. Н.А. Баха РАН. – Электрон. текст. дан.- М., 2011. – 323 с. – Режим доступа: <http://sedi2.esteri.it/Sitiweb/AmbMosca/Pubblicazioni/Faldon biotecnologierus.pdf>.- Загл. с экрана.
14. Цибудеева, Д.Ц. Биотехнология производства кормов / Д.Ц. Цибудеева, В.Ж. Цыренов. – Улан-Удэ: БНЦ СО РАН, 1993. – 53с.
15. Чхенкели, В.А. Биотехнология: учеб. пособие / В.А. Чхенкели. СПб.: Проспект Науки, 2014. - 336 с.

Иванова Елена Павловна
Скалозуб Ольга Михайловна

Биотехнология кормов: учебное пособие для обучающихся направлений подготовки 35.03.03 Агрохимия и агропочвоведение, 35.03.07 Технологии производства и переработки сельскохозяйственной продукции, 35.03.08 Агрономия ФГБОУ ВПО Приморская ГСХА

ЭЛЕКТРОННОЕ ИЗДАНИЕ

ФГБОУ ВПО Приморская ГСХА

Адрес: 692510. Уссурийск, пр. Блюхера, 44