

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ФЕРМЕНТАТИВНОГО МЕТОДА В ПРОИЗВОДСТВЕ КОРМОВЫХ ДОБАВОК ИЗ ВТОРИЧНОГО СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННОГО СЫРЬЯ

Исломов Файёзбек Шахобиддин угли

Шокирова Мукаддас Мусахоновна

Максумова Дилрабо Кучкаровна

Ташкентский химико-технологический институт

+998909197371

Важной научной и практической задачей биотехнологии является разработка комплексных кормовых добавок с ферментативными свойствами, способными улучшить перевариваемость трудногидролизуемых компонентов корма. Перспективным направлением является получение кормовых добавок на основе растительного сырья. Целью исследований являлось разработать ферментную кормовую добавку, обладающую целлюлозолитическими свойствами на основе растительного сырья с применением ферментного комплекса гриба рода *Trichoderma*, определить ее токсичность на простейших и теплокровных животных. Для получения ферментной кормовой добавки из целлюлозосодержащих отходов использовали 72 часовую жидкую маточную культуру микроскопического гриба *Trichoderma atroviride* ВКПМ F-1434 из учебной коллекции кафедры биотехнологии ФГБОУ ВО Орловский ГАУ, которую выращивали на сахарозно-дрожжевой среде (среда СД), обогащенной пророщенным измельченным и высушенным зерном с добавлением глицина. В качестве основы кормовой добавки использовали целлюлозосодержащие отходы сельскохозяйственного производства: смесь грубых пшеничных отрубей и соломы пшеницы (в соотношении 5:2). Полученная биологически активная ферментная кормовая добавка характеризуется пониженным содержанием «сырой» клетчатки (18%), повышенным содержанием «сырого» протеина (34%). Целлюлолитическая активность кормовой добавки составляет 72,4 ед/мл. Ферментная кормовая добавка на основе растительного сырья является абсолютно нетоксичным продуктом, в связи с этим может быть рекомендована к применению в промышленном животноводстве с целью увеличению продуктивности сельскохозяйственных животных.

Ключевые слова: ферментная кормовая добавка, растительное сырье, протеин, клетчатка, продуктивность.

An important scientific and practical task of biotechnology is the development of complex feed additives with enzymatic properties that can improve the digestibility of

hard-to-hydrolyze feed components. A promising direction is the production of feed additives based on vegetable raw materials. The aim of the research was to develop an enzyme feed additive with cellulolytic properties based on plant raw materials using an enzyme complex of a fungus of the genus *Trichoderma*, to determine its toxicity on protozoa and warm-blooded animals. To obtain an enzyme feed additive from cellulose-containing waste, we used a 72-hour liquid mother culture of the microscopic fungus *Trichoderma atrobrunneum* VKPM F-1434 from the educational collection of the Department of Biotechnology of the Orel State Agrarian University, which was grown on a sucrose-yeast medium (SD medium) enriched with sprouted crushed and dried grain with the addition of glycine. Cellulose-containing agricultural waste was used as the basis of the feed additive: a mixture of coarse wheat bran and wheat straw (in a ratio of 5:2). The resulting biologically active enzyme feed additive is characterized by a reduced content of "raw" fiber (18%), an increased content of "raw" protein (34%). The cellulolytic activity of the feed additive is 72.4 u/ml. An enzyme feed additive based on plant raw materials is an absolutely non-toxic product, in this regard, it can be recommended for use in industrial animal husbandry in order to increase the productivity of farm animals.

Keywords: enzyme feed additive, vegetable raw materials, protein, fiber, productivity.

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время активно ведется работа по расширению кормовой базы нетрадиционными и при этом дешевыми кормовыми добавками, зачастую требующими повышения их пищевой ценности, а также по разработке и внедрении в производство кормовых добавок с различными свойствами: ферментативными, лечебно-профилактическими, прои пребиотическими и др. [2, 6, 11, 14]. За последние годы в рецептуре комбикормов возросло содержание нетрадиционного фуражного сырья (ячмень, овес, рожь, горох, отруби), а в связи с изменением экономической ситуации в стране на сегодняшний день при производстве корма можно использовать более дешевые компоненты (подсолнечный шрот и жмых, солому и пр.) [1, 5, 7]. Включение такого сырья в рацион сельскохозяйственных животных значительно повышает содержание трудногидролизуемых веществ, снижающих энергетическую питательность корма, нарушающих процессы пищеварения и, как следствие, приводящих к снижению интенсивности роста молодняка и продуктивности взрослых сельскохозяйственных животных, а также увеличению риска возникновения различных заболеваний [12]. Важной научной и практической задачей биотехнологии является разработка комплексных кормовых добавок с ферментативными свойствами, способными улучшить перевариваемость трудногидролизуемых компонентов корма. Перспективным направлением

является получение кормовых добавок на основе растительного сырья. В качестве такого вида сырья широко используются отходы производства зерна, кукурузы, подсолнечника и многие другие [3]. Применение целлюлозолитических микроорганизмов, в частности микроскопического гриба рода *Trichoderma*, играет важную роль в биоконверсии различных целлюлозных отходов в кормовые продукты, являющимися безвредными для животных [8, 13]. В связи с этим целью исследований являлось: разработать ферментную кормовую добавку, обладающую целлюлозолитическими свойствами на основе растительного сырья с применением ферментного комплекса гриба рода *Trichoderma*, определить ее токсичность на простейших и теплокровных животных. Для получения ферментной кормовой добавки из целлюлозосодержащих отходов использовали 72 часовую жидкую маточную культуру микроскопического гриба *Trichoderma atrobrunneum* ВКПМ F-1434 из учебной коллекции кафедры биотехнологии ФГБОУ ВО Орловский ГАУ, которую выращивали на сахарозно-дрожжевой среде (среда СД), обогащенной пророщенным измельченным и высушенным зерном с добавлением глицина. Используемый штамм не является генетически модифицированным и относится к микроорганизмам, не патогенным для человека [9, 10]. Исследования проводили в трёхкратной повторности и в трёх сериях экспериментов. Статистическая обработка данных выполнена с использованием программы Microsoft Office Excell 10. Результаты исследований и их обсуждение Для оценки оптимального варианта питательной среды с целью наращивания биомассы микробного продуцента ферментов проведены исследования по его глубинному культивированию на сахарознодрожжевой среде с различным соотношением зернового сырья – пророщенного зерна пшеницы, являющегося естественным источником витаминов, минеральных веществ, ферментов и аминокислот в более концентрированном виде [4]. В субстрате оценивали количество клеток микроорганизма, содержание редуцирующих сахаров (РС) через 72 часа культивирования микромицета (табл. 1). Оптимальной средой для культивирования *Trichoderma atrobrunneum* ВКПМ F-1434 является сахарозно-дрожжевая среда, обогащенная пророщенным зерном в концентрации 10% от общего объема среды. Через 72 часа культивирования микромицета на данной среде, его количество составляет 11,8 мкг/г в а.с.в., что на 53% больше, чем при культивировании на сахарозно-дрожжевой среде без добавок. 10%-ное содержание пророщенного зерна в питательной среде позволяет микроорганизму эффективно проводить биоконверсию крахмалосодержащего компонента до свободных сахаров. Редуцирующих сахаров в субстрате образовывается 6,8%. Редуцирующие сахара являются показателем деструкции целлюлозного комплекса сырья за счет действия ферментов. Использование

других соотношений зернового сырья к среде не целесообразно, так как данное количество клеток микроорганизма недостаточно для накопления биомассы продуцента. Обогащение биологически активными соединениями питательных сред для культивирования грибов является важным аспектом получения функциональных кормовых добавок. В своей работе в качестве компонента питательной среды использовали глицин по причине того, что обеспечение достаточного содержания специфических заменимых аминокислот очень важно при скармливании сельскохозяйственным животным низкопротеиновых рационов. Дефицит глицина в кормах вызывает снижение прочности кожи (Christensen и соавт., 1994), ухудшение развития оперения у птицы (Robel, 1977) и сокращение секреции муцина (Ospina-Rojas и соавт., 2013). Многими исследователями установлено, что рацион с содержанием сырого протеина от 16 до 18%, в который добавили глицин до уровня, который был в контрольном Биология в сельском хозяйстве №3 (32), 2021 12 рационе с содержанием 22% сырого протеина, позволил получить ту же продуктивность животных, что и в контроле (Corzo и соавт., 2004; Jiang и соавт., 2005 г.; Schutte и соавт., 1997, др.). Проведенные исследования по влиянию глицина на накопление биомассы *Trichoderma atroviride* ВКПМ F-1434, продуцента получения ферментных кормовых добавок показали, что микроорганизм обладает чувствительностью к изменению концентрации глицина в питательной среде в условиях стационарного культивирования без перемешивания на сахарозно-дрожжевой среде с 10%-ным содержанием пророщенных зерен. При концентрации глицина в среде 20 мг/л имело место стимулирование роста гриба. Количество клеток микроорганизмов через 72 часа культивирования при добавлении глицина к экспериментальной среде в количестве 20 мг/л на 30% больше, чем в среде без добавления глицина. Содержание редуцирующих веществ в субстрате в 2,3 раза, что дает основание рекомендовать данную питательную среду для получения маточной культуры в технологии ферментной кормовой добавки. Была изучена ферментативная активность исследуемого микромицета на разных вариантах сахарознодрожжевых сред, выращенного в условиях стационарного глубинного культивирования без перемешивания. Наибольшей высокой ферментивной активностью обладает штамм *Trichoderma atroviride* ВКПМ F-1434 при культивировании на сахарознодрожжевой среде с 10% содержанием пророщенного зерна с глицином. Таким образом, получена жидкая маточная культура *Trichoderma atroviride* ВКПМ F-1434, обладающая выраженной ферментативной активностью и имеющая достаточное количество биомассы. В качестве сырья для получения ферментной кормовой добавки использовали целлюлозосодержащие отходы сельскохозяйственного производства, не находящие должного применения из-за компонентного состава, пшеничные

отруби грубые из некондиционного зерна и солома пшеницы. На следующем этапе получения ферментной кормовой добавки в простерилизованную (при 110 °C, 1,5 атм в течение 15 минут) смесь грубых пшеничных отрубей и соломы пшеницы (в соотношении 5:2) при 70%-й влажности, вносится жидкая маточная культура *Trichoderma atrobrunneum* ВКПМ F-1434 в количестве 1,5% от массы смеси. Данная засевная доза позволяет накопить достаточное количество биомассы микроорганизма для активного накопления ферментного комплекса. Эффективность процесса получения ферментной кормовой добавки с заданными свойствами обеспечивается путем выдерживания влажной смеси пшеничных отрубей и соломы пшеницы инокулированной продуцентом при температуре 26-28°C в течение 7 суток при равномерном перемешивании. Более 8 суток культивирование продуцента на целлюлозосодержащих отходах не целесообразно, так как снижается качество добавки, так как субстратная масса становится пластилинообразная, что затрудняет ее ввод и равномерное распределение по добавке. Конечный этап получения ферментной кормовой добавки включает подсушивание при 40°C (для удаления клеток продуцента), его механическое измельчение на лабораторной мельнице и фасовку в бумажные пакеты, в которых они могут храниться в течение 4-6 мес. при 20-25°C или в течение 10 мес. в холодильнике. Кормовой продукт с содержанием 18% «сырой» клетчатки, 34% «сырого» протеина, 72,4 ед/мл целлюлолитической активности, 10,9 мкг/г глицина, способствует разрушению клетчатки грубых кормов до легкодоступных сахаров, улучшает микробиологическую среду кишечника за счет снижения вязкости его содержимого, а также повышает перевариваемость питательных веществ и их всасывание, предназначен для сельскохозяйственных животных и птицы в качестве кормовой добавки (норма ввода в корм не более 10% к основному рациону питания). Одним из параметров установления биологической ценности ферментной кормовой добавки, полученной на основе микроскопического гриба *Trichoderma atrobrunneum* ВКПМ F-1434, было определение в ней острой токсичности в опыте на лабораторных животных, так как микроскопические грибы могут быть потенциальными аллергенами и возбудителями токсикозов. Результаты определения общей токсичности кормовой добавки на стилонихиях (по ГОСТ 31674- 2012 «Корма, комбикорма, комбикормовое сырье. Исследуя отруби и опилки на общую токсичность экспресс-методом на стилонихиях, была отмечена практически 100%-я сохранность инфузорий для каждого экстракта, что свидетельствует о нетоксичности компонентов субстрата. В свою очередь, результаты по исследованию острой токсичности исследуемой ферментной кормовой добавки показали 99,4% выживаемость инфузорий в водном экстракте и 98,7% - в водном растворе ацетонового экстракта, что позволяет отнести ее к категории

нетоксичных кормов. Во время проведения острого опыта определения токсичности на лабораторных животных (после однократного ввода добавки непосредственно в желудок), белых мышей не ограничивали в корме и воде. На протяжении всего исследования мыши сохраняли активность и подвижность, а также хороший аппетит, в итоге отклонений о нормы поведения выявлено не было. Забор крови для биохимических исследований производили путем полного обескровливания животных (декапитация). Как видно из табл. 8, значительных изменений в некоторых морфологических и биохимических показателях крови при использовании исследуемой ферментной кормовой добавки при вскармливании лабораторных белых мышей в течение 7 дней (10% от основной массы корма) не выявлено, все было в пределах физиологических норм. В опытной группе экспериментальных животных отмечено достоверное различие в уменьшении лейкоцитов на 7,8% по сравнению с контролем. Из полученных показателей можно сделать вывод, что полученная нами ферментная кормовая добавка не только не оказала токсического действия на организм экспериментальных животных (белых мышей), но и способствовала отсутствию воспалительных процессов у животных. По окончании исследования белых мышей усыпили медицинским эфиром и провели вскрытие. В результате вскрытия подопытных животных макроскопических изменений со стороны внутренних органов отмечено не было. Патологии со стороны легких и сердца нет. Печень без видимых изменений. Желчный пузырь не растянут, содержимое желчного пузыря желтого цвета. Слизистая оболочка желудка без изъязвлений и гиперемии. Вывод. Таким образом, биологически активная ферментная кормовая добавка на основе ферментного комплекса грибов рода *Trichoderma atrobrunneum* ВКПМ F-1434, полученная методом стационарного ферментирования в жидком слое прогидролизованного растительного сырья – смеси грубых пшеничных отрубей (из некондиционного зерна) и соломы пшеницы, характеризуется пониженным содержанием «сырой» клетчатки (18%), повышенным содержанием «сырого» протеина (34%), целлюлолитической активностью 72,4 ед/мл, является абсолютно нетоксичным продуктом, в связи с этим может быть рекомендована к применению в промышленном животноводстве с целью увеличению продуктивности сельскохозяйственных животных.

Литература

1. Гнеушева И.А. Биотехнологическая переработка отходов производства гречихи и получение ценных продуктов / Автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата технических наук / Воронежский государственный университет инженерных технологий. Воронеж, 2014. с.24.

2. Гнеушева И.А. Кормовые биологически активные добавки для промышленного животноводства / И.А. Гнеушева, И.Ю. Солохина, Н.Н. Полехина, Н.Е. Павловская // Хранение и переработка сельхозсырья. 2012. - №3. - С.30-32.

3. Джахангирова Г. З. Повышение кормовой ценности комбикормов с использованием нетрадиционного сырья / Г.З Джахангирова, Ф.Н. Сарболаев, А.И. Миралимова // Universum: технические науки. 2021. №4-3 (85). Биология в сельском хозяйстве №3 (32), 2021 15

4. Зенькова М. Л. Исследование минерального и аминокислотного состава пророщенного и консервированного зерна пшеницы / М. Л. Зенькова // Техника и технология пищевых производств. – 2019. – Т. 49, № 4. – С. 513–521. DOI: <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2019-4-513-521>.

5. Коцаев А.Г. Безотходная переработка подсолнечного шрота / А.Г Коцаев, Г.А. Плутахин, Г.В. Фисенко, А.И. Петенко // Хранение и переработка сельхозсырья. 2008. - №3. – С.66-68.