

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(21) **202000237** (13) **A1**

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2022.01.31

(22) Дата подачи заявки
2020.07.22

(51) Int. Cl. *A23K 10/10* (2006.01)
A23K 10/12 (2006.01)
A23K 30/18 (2006.01)
C12R 1/225 (2006.01)

(54) СПОСОБ СИЛОСОВАНИЯ РАСТИТЕЛЬНОГО СЫРЬЯ

(96) 2020/ЕА/0046 (ВУ) 2020.07.22

(71) Заявитель:
**ОБЩЕСТВО С ОГРАНИЧЕННОЙ
ОТВЕТСТВЕННОСТЬЮ
"ФЕРМЕНТ" (ВУ)**

(72) Изобретатель:
**Логвинова Анна Викторовна,
Болтовский Валерий Станиславович,
Шавейко Ирина Валерьевна, Архипов
Иван Николаевич, Степанов Сергей
Николаевич, Бестолков Валерий
Витальевич (ВУ)**

(74) Представитель:
Хлебцевич В.А. (ВУ)

(57) Изобретение относится к области биотехнологии и кормопроизводства и может быть использовано при переработке растительного сырья для получения кормовых продуктов, в частности силоса из трав для сельскохозяйственных животных. Технический результат от решения поставленной задачи заключается в возможности получения силоса высокого качества из трав злаковых и бобовых культур путем инициирования глубокого гидролиза трудноперевариваемой клетчатки. Способ силосования растительного сырья осуществляется путем кошения, измельчения зеленой массы трав злаковых и бобовых культур, кукурузы и введения путем орошения в измельченную смесь трав комплексного биопрепарата на основе бактериальной закваски компонентов *Lactobacillus plantarum* (лактобактерии плантарум) и *Lactobacillus casei* (лактобациллы) и ферментного препарата. Согласно изобретению компоненты комплексного биопрепарата вносят в виде сухой смеси, содержащей консорциум микроорганизмов *Lactobacillus plantarum* и *Lactobacillus casei* в количестве 1×10^{11} КОЕ/г и ферментного препарата в виде мультиэнзимной композиции на основе целлюлазы - 300-10000 ед./г, ксиланазы - 500-70000 ед./г, пектиназы - 500-15000 ед./г с содержанием компонентов ферментного препарата, соответственно в соотношении (1-5:1,5-4,4:6,1-10,2), при этом перед введением в измельченную зеленую массу трав комплексного биопрепарата готовят рабочий раствор комплексного биопрепарата, в 1 л которого вводят 3-300 г порошка сухой смеси комплексного биопрепарата, и предварительно измельченную зеленую массу трав обрабатывают путем напыления рабочего водного раствора консорциума микроорганизмов *Lactobacillus plantarum* и *Lactobacillus casei* и ферментного препарата в соотношении 1 л на 1 т силоса, полученный корм уплотняют и хранят в анаэробных условиях без доступа солнечного света до 30-60 дней.

202000237
A1

202000237

A1

СПОСОБ СИЛОСОВАНИЯ РАСТИТЕЛЬНОГО СЫРЬЯ

5 ОБЛАСТЬ ТЕХНИКИ, К КОТОРОЙ ОТНОСИТСЯ ИЗОБРЕТЕНИЕ

Изобретение относится к области биотехнологии и кормопроизводства и может быть использовано при переработке растительного сырья для получения кормовых продуктов, в частности силоса из трав для сельскохозяйственных животных.

ПРЕДПОСЫЛКИ СОЗДАНИЯ ИЗОБРЕТЕНИЯ

10 Эффективное развитие животноводства невозможно без получения высококачественного силоса и сенажа. Процесс созревания силоса является биохимическим процессом. Актуальной является технология регулирования данного процесса путем внесения в силосуемую массу специально отселекционированных молочнокислых бактерий и ферментного препарата.

15 В сельскохозяйственной микробиологии разработана технология по совершенствованию заквасок, в результате которой получены новые штаммы молочнокислых бактерий, которые приобрели дополнительно полезные свойства, например, осмоотолерантность, существенно повышающую эффективность применения силосной закваски. Сок зеленых растений, образующийся при силосовании, имеет высокое
20 осмотическое давление и тормозит развитие бактерий. Осмоотолерантные молочнокислые бактерии в силосуемой зеленой массе вследствие этого размножаются значительно быстрее, больше синтезируют молочной кислоты. Оперативное подкисление силосуемой массы обеспечивает высокое качество силоса.

В результате проведенных усовершенствований технологии производства
25 молочнокислых бактерий и отработки режимов способов силосования позволили стабилизировать эффективность действия силосной закваски штамма *Lactobacillus plantarum* (лактобактерии плантарум) молочнокислых бактерий.

Известны способы силосования проявленных многолетних бобовых трав, в том числе козлятника восточного, включающих кошение, измельчение зеленой массы и внесение
30 бактериальных препаратов, созданных на основе молочнокислых и пропионовокислых бактерий [1]. Способ силосования трав, предусматривает использование одних только микроорганизмов вида *Bacillus subtilis*, не уступает по своей эффективности предложенному ранее способу силосования проявленных трав с использованием препаратов из

осмотолерантных штаммов молочнокислых бактерий в смеси с культурой *Bacillus subtilis* и, в отличие от последнего, позволяет заметно сокращать распад питательных веществ до газообразных продуктов и повышать качество полученного корма по продуктам брожения не только при силосовании провяленных, но и свежескошенных трав, независимо от их

5 обеспеченности сахаром.

Недостатком известных способов силосования многолетних бобовых трав, в том числе козлятника восточного, с использованием бактериальных препаратов является низкое качество силоса, обусловленное тем, что используемые бактериальные препараты содержат только консорциум молочнокислых бактерий, не всегда обеспечивающих хорошую

10 ферментацию силоса из-за истощения доступных сахаров прежде, чем может быть накоплено достаточное количество молочной кислоты для подавления жизнедеятельности гнилостной микрофлоры.

Козлятник восточный создает более высокую буферную среду по сравнению с другими бобовыми культурами за счет большого содержания органических кислот и белка, поэтому при его силосовании для достижения необходимого уровня pH требуется, чтобы

15 бактерии производили больше молочной кислоты, что невозможно при низком содержании в нем ферментируемых сахаров.

В результате при силосовании провяленной массы козлятника восточного с использованием известных бактериальных препаратов качество готового корма нередко

20 остается низким.

Известен способ силосования провяленного козлятника восточного включающий кошение в фазу бутонизации растений козлятника восточного, измельчение травяной массы и внесение в измельченную массу комплексного биопрепарата на основе ферментов и бактериальных культур, соответственно, Феркон в смеси с Биосибом. Способ

25 предусматривает кошение растений козлятника восточного, измельчение травяной массы и внесение в измельченную массу комплексного биопрепарата 3%-ной концентрации в количестве 0,3% от веса провяленной измельченной массы козлятника восточного. Затем силосную массу уплотняют и изолируют от доступа воздуха. В качестве комплексного биопрепарата используют жидкофазное биосредство. [2]

Известный способ силосования обеспечивает гидролиз труднопереваримых фракций углеводов и пополнение недостатка водорастворимых сахаров. Входящие в состав препарата Биосиб молочнокислые бактерии быстро используют сахара для питания с образованием молочной, частично уксусной кислот, консервирующих корм.

30

Недостатком известного способа является то, что комплексные биопрепараты на основе ферментов и бактериальных культур, судя по их составу, получают в результате трудоемкого и сложного процесса производства ферментов и отселекционированных штаммов микроорганизмов.

5 Наладить экспериментальное производство препаратов можно только в специализированных микробиологических лабораториях, промышленное производство экономически не выгодно. Недостатком известного уровня технического решения является сравнительно высокое содержание сахарозы, необходимое для повышения содержания биологически активных веществ в водных экстрактах, что приводит к значительному
10 удорожанию препарата.

Известен способ силосования провяленных многолетних бобовых трав, в том числе козлятника восточного, с применением ферментных препаратов, созданных на основе комплекса гидролитических и лиазных ферментов: целлюлазы, ксиналазы, пектин-лиазы, которые обеспечивают гидролиз целлюлозы, гемицеллюлоз и пектиновых веществ до
15 моносахаридов. [3], [4] В результате образования достаточного количества сахара появляются благоприятные условия для развития молочнокислых бактерий.

Недостатком известного способа силосования провяленного козлятника восточного с применением ферментного препарата является то, что известный ферментный препарат способствует гидролизу полисахаридов до свободных сахаров, которые могут быть
20 использованы гнилостной микрофлорой, что может привести в результате к снижению качества готового корма.

Недостатком известного способа силосования провяленного козлятника восточного с применением ферментного препарата является то, что препарат, содержащий только ферменты, рассчитан на наличие в силосуемой растительной массе в достаточном
25 количестве естественных эпифитных молочнокислых бактерий, способных производить достаточное количество молочной кислоты для устранения масляно-кислого и гнилостного брожения. Кроме того, недостатком известного способа силосования провяленного козлятника восточного с применением ферментного препарата является то, что препарат Феркон довольно дорогостоящий - около 75-100 рос. руб./т силосуемой
30 массы.

Одним из основным видом сырья для производства растительного белка и обменной энергии при заготовке кормов, особенно для жвачных животных, являются многолетние бобовые и бобово-злаковые травы. Установлено, что у данных видов трав максимальный

сбор перевариваемых питательных веществ и высокое качество зеленой массы по содержанию сырого протеина (18-22%), биологически активных веществ, высокая энергетическая питательность (10,5-10,8 МДж ОЭ в 1 кг сухого вещества), обеспечивается при скашивании растений в фазе бутонизации или ее начале. Однако в эти фазы вегетации бобовые травы представляют собой трудносилосуемое сырье. И, как правило, высокое содержание белка и дефицит легкобразжываемых углеводов не позволяет заготовить доброкачественный силос. [5]

В связи с этим широкое распространение при силосовании на практике получили различные химические консерванты и силосные закваски, принципиальное назначение которых состоит в том, чтобы обеспечить подавляющее превосходство молочнокислого брожения.

Известен способ силосования провяленных многолетних трав с применением препарата Биотроф, в состав которого входит штамм бактерий *Lactobacillus plantarum* 60 ВНИИСХМ 78 Д. Указанный штамм эффективен для силосования различных трав, в том числе козлятника, ежи сборной и смеси люцерны с злаковыми, в результате чего получается силос высокого качества. [6]

Недостатком известного способа является то, что биологические препараты на основе осмоотолерантных молочно-кислых бактерий не обеспечивают глубокий гидролиз сложных труднопереваримых углеводов, которые в результате ферментативной обработки могут восполнить дефицит легкобразжываемых сахаров для питания молочно-кислых бактерий и образования достаточного количества молочной кислоты - консерванта силоса.

Известен биологический консервант «Сил-Олл» (Alltech), содержащий молочно-кислые бактерии (*Lactococcus faecium*, *Lactobacillus plantarum*, *Pediococcus acidilactici*, *Lactobacillus salivarius*) и набор ферментов (целлюлаза, гемицеллюлаза, пентоназа, амилаза). Использование биоконсерванта при заготовке силоса ведет к увеличению (сохранности) питательных веществ, а именно: сухого вещества на 15,1%, обменной энергии на 32,3%, сырого протеина на 47,9% и безазотисто-экстрактивных веществ на 27,6%. [7]

Что касается содержания сырой клетчатки, то она снижается на 16,48% . [7] Силос, заготовленный с использованием биопрепарата «Сил-Олл» имеет высокую себестоимость.

Наиболее близким аналогом по технической сущности является, выявленный в качестве прототипа, является способ силосования на основе биологического консерванта «Силос Фидтек F18» (ЗАО «ДеЛаваль») (прототип) для заготовки злаковых и бобовых культур. [8]

Способ включает заготовку силоса путем кошения зеленой массы в фазу бутонизации и введение путем орошения в злаково-бобовую смесь трав молочно-кислых бактерий. Способ заключается в провяливание скошенных трав, послойном внесении консерванта в измельчённую массу, трамбовке и герметизации. Для силосования многолетних бобовых и бобово-злаковых трав используют консервант, состоящий из молочно-кислых бактерий *Lactobacillus plantarum* 52, *Lactobacillus lactis*, *Lactobacillus buchneri*, пропионово-кислых бактерий *Propionibacterium freudenreichii* 11 и ферментного препарата (cellulose-xylanase). "Биоксил". При введении данного препарата в злаково-бобовую смесь трав, сохранилось: сырого протеина, обменной энергии и сахара от их содержания в исходной зеленой массе, соответственно, больше на 11,1; 2,5; 1,8%, чем в силосе при спонтанном подкислении.

Осуществление изобретения обеспечивает получение корма с повышенной биологической ценностью и питательностью за счёт повышения эффективности молочно-кислого брожения и разрушения компонентов клетчатки с образованием сахаров, которые являются компонентами питательной среды для молочнокислых бактерий

Однако, затраты на приобретение указанного биологического консерванта составляют в среднем 110 рос. руб./т, что повышает стоимость готового продукта.

Недостатком известного способа силосования многолетних бобовых трав, в том числе козлятника восточного, с использованием бактериальных препаратов является низкое качество силоса, обусловленное тем, что используемые бактериальные препараты содержат только консорциум молочнокислых бактерий, не всегда обеспечивающих хорошую ферментацию силоса из-за истощения доступных сахаров прежде, чем может быть накоплено достаточное количество молочной кислоты для подавления жизнедеятельности гнилостной микрофлоры.

Задача, решаемая изобретением, заключается в разработке способа силосования трав злаковых и бобовых культур, кукурузы и в том числе на основе провяленного козлятника восточного с применением нового препарата для силосования, дешевого и эффективного, расширяющего ассортимент имеющихся комплексных биологических препаратов и обеспечивающего высокое качество силоса.

Технический результат от решения поставленной задачи заключается в возможности получения силоса высокого качества из трав злаковых и бобовых культур путем инициирования глубокого гидролиза трудноперевариваемой клетчатки для повышения накопления и образования достаточного количества молочной кислоты, подавляющей

жизнедеятельность гнилостной микрофлоры и снижение себестоимости животноводческой продукции.

КРАТКОЕ ИЗЛОЖЕНИЕ СУЩНОСТИ ИЗОБРЕТЕНИЯ

5 Техническая задача, на решение которой направлено изобретение заключается в создании объекта, характеристики которого удовлетворяют заданным требованиям к силосованию зеленой массы травы с применением биопрепарата, усиленного уникальной ферментной композицией, обеспечивающей глубокий гидролиз трудноперевариваемой клетчатки для образования достаточного количества молочной кислоты для подавления
10 жизнедеятельности гнилостной микрофлоры и повышающий усвояемость силоса и его экологию.

Задача, решаемая изобретением, заключается в разработке способа силосования зеленой массы травы с применением биопрепарата, усиленного уникальной ферментной композицией, обеспечивающей глубокий гидролиз трудноперевариваемой клетчатки,
15 повышающий усвояемость силоса.

Технический результат от решения поставленной задачи заключается в возможности получения силоса высокого качества из зеленой массы травы с улучшенными питательными характеристиками растительного сырья зеленой массы травы,

Сущность изобретения выражается новой совокупностью признаков, необходимых и
20 достаточных для осуществления изобретения с достижением указанного технического результата и реализована тем, что в способе силосования растительного сырья, включающем заготовку силоса путем кошения, измельчения зеленой массы трав злаковых и бобовых культур, кукурузы и введения путем орошения в смесь трав молочно-кислых бактерий комплексного биопрепарата на основе бактериальной закваски компонентов *Lactobacillus plantarum* (лактобактерии плантарум), *Lactobacillus casei* (лактобациллы) и ферментного
25 препарата, согласно изобретению, компоненты комплексного биопрепарата вводят в виде сухой смеси, содержащей консорциум микроорганизмов *Lactobacillus plantarum* и *Lactobacillus casei* (лактобациллы) в количестве $1 \cdot 10^{11}$ КОЕ/г и ферментного препарата в виде мультиэнзимной композиции на основе: целлюлазы – 300-10000 ед/г, ксиланазы – 500-70000
30 ед/г, пектиназы – 500-15000 ед/г. с содержанием компонентов ферментного препарата, соответственно, в соотношении: (1-5:1,5-4,4:6,1-10,2), при этом перед введением в измельченную зеленую массы трав комплексного биопрепарата готовят рабочий раствор комплексного биопрепарата, в 1 л которого вводят 3-300 г порошка сухой смеси

комплексного биопрепарата в предварительно измельченную зеленую массу трав обрабатывают путем напыления рабочего водного раствора консорциума микроорганизмов *Lactobacillus plantarum* и *Lactobacillus casei* и ферментного препарата в соотношении 1 л на 1 т силоса, полученный корм уплотняют и хранят в анаэробных условиях без доступа солнечного света от 30 до 60 дней. В способе силосования технологично осуществлять гомогенизацию компонентов путем смесеобразования, при этом *Lactobacillus plantarum* (лактобактерии плантарум) вводят до антагонистической активности против гнилостных микроорганизмов и маслянокислых бактерий, препятствуя развитию клостридий путем повышения осмофильности в растительной массе из трав как с пониженной влажностью (55–65%), так и с повышенной и до инициирования грамположительных анаэробных неспорообразующих молочнокислых бактерий, а *Lactobacillus casei* (лактобациллы) вводят для подавления роста условно-патогенной спорообразующей микрофлоры и превращения лактозы и углеводов в молочную кислоту, при этом ферментный препарат на основе целлюлазы, ксиланазы, пектиназы вводят с мальтодекстрином, сахарозой, лактулозой для гидролиза некрахмалистых полисахаридов до олигосахаридов, иницирующих развитие молочнокислых бактерий в растительной массе из трав.

В способе силосования растительного сырья, предпочтительно чтобы предварительно осуществляли гомогенизацию компонентов комплексного биопрепарата в виде сухой смеси путем смесеобразования, при этом *Lactobacillus plantarum* (лактобактерии плантарум) вводят до антагонистической активности против гнилостных микроорганизмов и маслянокислых бактерий, препятствуя развитию клостридий путем повышения осмофильности в растительной массе из трав как с пониженной влажностью (55–65%), так и с повышенной влажностью и до инициирования грамположительных анаэробных неспорообразующих молочнокислых бактерий, а *Lactobacillus casei* (лактобациллы) вводят для подавления роста условно-патогенной спорообразующей микрофлоры и превращения лактозы и углеводов в молочную кислоту, при этом ферментный препарат на основе целлюлазы, ксиланазы, пектиназы вводят с мальтодекстрином, сахарозой, лактулозой для гидролиза некрахмалистых полисахаридов до олигосахаридов, иницирующих развитие молочнокислых бактерий в растительной массе из трав.

В способе силосования растительного сырья, предпочтительно чтобы орошение смеси трав молочнокислыми бактериями указанного комплексного биопрепарата и ферментного препарата осуществляли через систему форсунок туманообразования с применением

аэрозольного генератора тумана для повышения скорости инициирования грамположительных анаэробных неспорообразующих молочнокислых бактерий и обработки от вредителей.

Новая совокупность существенных отличий изобретения не следует явным образом из известного уровня техники, следовательно, способ силосования зеленой массы травы соответствует критерию "изобретательский уровень".

Технический результат, определяющий новое свойство способа силосования зеленой массы травы, улучшающий технические характеристики проявляющиеся при использовании изобретения реализуется избирательным применением комплексных препаратов на основе ферментов и бактериальных культур, что обеспечивает избирательность свойств получаемой продукции путем производства достаточного количества молочной кислоты для устранения масляно-кислого и гнилостного брожения в силосе.

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ ПРЕДПОЧТИТЕЛЬНОГО ПРИМЕРА

Способ силосования растительного сырья, в общем виде, предусматривает кошение растений зеленой массы трав, измельчение травяной массы и внесение в измельченную массу комплексного биопрепарата, соответственно, от веса измельченной травяной массы, затем силосную массу уплотняют и изолируют от доступа воздуха.

Способ силосования растительного сырья включает измельчение зеленой массы травы, внесение в нее комплексного биопрепарата на основе бактериальной закваски компонентов *Lactobacillus plantarum* (лактобактерии плантарум), *Lactobacillus casei* (лактобациллы) и ферментного препарата.

Согласно изобретению компоненты комплексного биопрепарата вводят в виде сухой смеси, содержащей консорциум микроорганизмов *Lactobacillus plantarum* и *Lactobacillus casei* в количестве $1 \cdot 10^{11}$ КОЕ/г и ферментного препарата в виде мультиэнзимной композиции на основе целлюлазы – 300-10000 ед/г, ксиланазы – 500-70000 ед/г, пектиназы – 500-15000 ед/г с содержанием компонентов ферментного препарата в соотношении: (1-5:1,5-4,4:6,1-10,2), при этом перед введением в измельченную зеленую массы травы комплексного биопрепарата готовят рабочий раствор комплексного биопрепарата, в 1 л которого вводят 3-300 г порошка сухой смеси комплексного биопрепарата и предварительно измельченную зеленую массу трав обрабатывают путем напыления рабочего водного раствора консорциума микроорганизмов *Lactobacillus plantarum* и *Lactobacillus casei* и ферментного препарата в соотношении 1 л на 1 т силоса, полученный корм уплотняют и хранят в анаэробных условиях без доступа солнечного света до 30 дней.

Для улучшения в способе силосования предварительно осуществляют гомогенизацию компонентов путем смесеобразования, при этом *Lactobacillus plantarum* (лактобактерии плантарум) вводят до антагонистической активности против гнилостных микроорганизмов и маслянокислых бактерий, преимущественно, препятствуя развитию клостридий путем
 5 повышения осмофильности в растительной массе из трав как с пониженной влажностью (55–65%), так и с повышенной влажностью и до инициирования грамположительных анаэробных неспорообразующих молочнокислых бактерий, а *Lactobacillus casei* (лактобациллы) вводят для подавления роста условно-патогенной спорообразующей микрофлоры и превращения лактозы и углеводов в молочную кислоту, при этом ферментный препарат на
 10 основе целлюлазы, ксиланазы, пектиназы вводят с мальтодекстрином, сахарозой, лактулозой для гидролиза некрахмалистых полисахаридов до олигосахаридов, иницирующих развитие молочнокислых бактерий в растительной массе из трав.

Введение путем орошения в смесь трав молочно-кислых бактерий комплексного биопрепарата на основе бактериальной закваски компонентов *Lactobacillus plantarum*
 15 (*лактобактерии плантарум*), *Lactobacillus casei* (*лактобациллы*) и ферментного препарата, целесообразно осуществлять через систему форсунок туманообразования с применением аэрозольного генератора тумана, что дает возможность проводить орошение смеси трав не только для ее обработки от вредителей, но скорость инициирования грамположительных анаэробных неспорообразующих молочнокислых бактерий.

20 Осуществление изобретения позволяет получить эффективный препарат, который обеспечивает высокое качество силоса с пониженным содержанием трудноперевариваемой клетчатки.

При создании препарата используется сразу два вида лактобактерий *Lactobacillus plantarum* (*лактобактерии плантарум*) и *Lactobacillus casei* (*лактобациллы*), которые
 25 обеспечивают накопление необходимого для консервации растительного корма количества преимущественно молочной кислоты.

Lactobacillus plantarum обладают высокой антагонистической активностью против гнилостных микроорганизмов и маслянокислых бактерий. Повышенная осмофильность позволяет им развиваться в растительной массе из трав как с пониженной влажностью (55–
 30 65%), так и с повышенной. Быстрое подкисление консервируемой массы до pH 4,1–4,5 препятствует развитию клостридий.

Lactobacillus casei подавляют рост условно-патогенной спорообразующей микрофлоры.

Новая технология позволяет расширить промышленно-технологические возможности заготовки растительных кормов. Перспективным направлением при консервировании высокобелковых многолетних трав является способ получения качественного корма за счет ферментативной конверсии растительного сырья ферментными препаратами широкого спектра действия, обеспечивающей быстрое заквашивание корма до pH 4,0-4,2.

Применение ферментных препаратов целлюлолитического действия при силосовании растительного сырья с недостаточным содержанием водорастворимых сахаров способствует деполимеризации структурных полисахаридов: целлюлозы, гемицеллюлозы и пектиновых веществ в моносахара и сбраживанию их молочнокислыми бактериями в молочную, частично уксусную кислоты, которые консервируют корм. Это дает возможность пересмотреть понятие "сахарный минимум" и расширить ассортимент кормовых культур для консервирования кормов путем силосования. Эффективными, при определенных условиях, могут быть микробиологические закваски, представляющие собой отселекционированные штаммы в основном молочнокислых бактерий. Использование заквасок при силосовании основано на искусственном увеличении численности гомо-ферментативных бактерий для более полного и быстрого сбраживания сахаров в молочную кислоту. Скорость инициирования образования молочной кислоты определяется численностью молочнокислых бактерий населяющих растения и вносимых в силосуемую массу, а также количеством доступных для сбраживания углеводов, то есть созданием условий для преимущественного развития молочнокислых бактерий.

При консервировании высокобелковых многолетних трав по изобретению применено перспективное направление технологии получения качественного корма за счет ферментативной конверсии растительного сырья ферментными препаратами широкого спектра действия, обеспечивающей быстрое заквашивание корма до pH 4,0-4,2. Применение ферментных препаратов целлюлолитического действия при силосовании растительного сырья с недостаточным содержанием водорастворимых сахаров способствует деполимеризации структурных полисахаридов: целлюлозы, гемицеллюлозы и пектиновых веществ в моносахара и сбраживанию их молочнокислыми бактериями в молочную, частично уксусную кислоты, которые консервируют корм. Это дает возможность пересмотреть понятие "сахарный минимум" и расширить ассортимент кормовых культур для консервирования кормов путем силосования. Эффективными, при определенных условиях, могут быть микробиологические закваски, представляющие собой отселекционированные штаммы в основном молочнокислых бактерий. Использование заквасок при силосовании

основано на искусственном увеличении численности гомо-ферментативных бактерий для более полного и быстрого сбраживания сахаров в молочную кислоту. Скорость образования молочной кислоты определяется численностью молочнокислых бактерий населяющих растения и вносимых в силосуемую массу, а также количеством доступных для сбраживания углеводов, то есть созданием условий для преимущественного развития молочнокислых бактерий.

Способ иллюстрируется примерами с табличным наполнением сравнительных характеристик известного уровня техники и изобретения в зависимости от зеленой массы трав злаковых, бобовых культур и кукурузы.

Способ включает кошение, измельчение растительного сырья зеленой массы травы и внесение в него биопрепарата, который содержит бактериальную закваску в смеси с ферментной композицией.

В общем случае компоненты комплексного биопрепарата вносят в виде сухой смеси, содержащей консорциум микроорганизмов *Lactobacillus plantarum* (лактобактерии плантарум) и *Lactobacillus casei* (лактобациллы) в количестве $1 \cdot 10^{11}$ КОЕ/г и ферментного препарата в виде мультиэнзимной композиции на основе: 300-10000 ед/г, ксиланазы – 500-70000 ед/г, пектиназы – 500-15000 ед/г с содержанием компонентов ферментного препарата, соответственно, в соотношении: (1-5:1,5-4,4:6,1-10,2), при этом перед введением в измельченную зеленую массу трав комплексного биопрепарата готовят рабочий раствор комплексного биопрепарата, в 1 л которого вводят 3-300 г порошка сухой смеси комплексного биопрепарата.

В примере биоконсервант представляет собой сухую смесь ферментного препарата на основе целлюлазы, ксиланазы, пектиназы, и бактериальной закваски, содержащей *Lactobacillus plantarum* и *Lactobacillus casei*. Его подготовка предусматривает приготовление рабочего раствора, 1 л которого содержит 102 г порошка.

Предварительно подготовленную зеленую массу, обрабатывают путем напыления рабочего раствора консерванта в соотношении 1 л на 1 т силоса. Полученный корм уплотняют и хранят в анаэробных условиях без доступа солнечного света.

Пример 1 получения композиции: ксиланазы/ целлюлазы/ пектиназы:

- порошок целлюлазы с активностью от 300 до 10000 ед/г перемешивают с порошком ксиланазы активностью от 500 до 70000 ед/г и порошком пектиназы активностью от 500 до 15000 ед/г в соотношении 1-5:1,5-4,4:6,1-10,2. Смесь растворяют в воде при температуре от 20 до 40°C с 10-30% мас. мальтодекстрином, сахарозой, лактулозой. Показатели полученного

продукта измельченной зеленой массы на основе трав злаковых и бобовых культур, кукурузу сведены в таблицу 1.

5

Таблица 1

Характеристики полученного продукта	Состав:
Измельченная зеленая масса на основе многолетних бобовых трав	90 мас. % (с массовой долей %)
Ферментный состав (из с)	3 мас. %
Активность ксиланазы (ксилолитическая)	от 500 до 70000 ед/г
Активность целлюлазы (целлолитическая)	от 300 до 10000 ед/г
Активность пектиназы (пектолитическая)	от 500 до 15000 ед/г
Остаточная влажность	2-7,5 мас. %
Средний диаметр частиц	10-500 мкм
Состав биопрепарата	КОЕ/г (колоний образующих единиц)
<i>Lactobacillus plantarum</i> -	1-10 ¹¹ КОЕ/г
<i>Lactobacillus casei</i> -	1-10 ¹¹ КОЕ/г

Из полученного продукта готовят рабочий раствор комплексного биопрепарата, в 1 л которого содержится 102 г сухой смеси порошка комплексного биопрепарата, при этом предварительно измельченную зеленую массу трав обрабатывают путем напыления рабочего жидкого раствора консерванта в соотношении 1 л на 1 т силоса. Полученный корм уплотняют и хранят в анаэробных условиях без доступа солнечного света от 30 до 60 дней.

Пример 2. В таблице 2 представлены результаты опытов по определению процентного содержания в силосе на основе кукурузы смеси органических кислот и качества корма по продуктам брожения при обычном силосовании зеленой массы с разным сахаро-буферным отношением, силосовании этого же сырья без добавок, с добавкой по прототипу бактерий вида *Lactobacillus plantarum*+Фермент и его консервировании по изобретению компонентами комплексного биопрепарата *Lactobacillus plantarum* + *Lactobacillus casei* + фермент в виде мультиэнзимной композиции.

Качество корма полученного, например, из кукурузного силоса по продуктам брожения в зависимости от количества комплексного биопрепарата сведено в таблицу 2

Таблица 2

Способ силосования (компоненты)	Трудногидролизуемые полисахариды, %	Содержание в силосе, %		
		Молочной кислоты	уксусной кислоты	масляной кислоты
Без добавок	26,6	0,73	0,93	0,01
прототип <i>Lactobacillus plantarum</i> +Фермент	26,4	3,23	0,59	0
по изобретению <i>Lactobacillus plantarum</i> + <i>Lactobacillus casei</i> + фермент в виде мультиэнзимной композиции	21,3	5,15	0,74	0

Пример 3. В таблице 3 представлены результаты опытов по определению процентного содержания в силосе на основе трав злаковых культур смеси органических кислот и качества корма по продуктам брожения при обычном силосовании зеленой массы с разным сахаро-буферным отношением, силосовании этого же сырья без добавок, с добавкой по прототипу бактерий вида *Lactobacillus plantarum*+Фермент и его консервировании по изобретению компонентами комплексного биопрепарата *Lactobacillus plantarum* + *Lactobacillus casei* + фермент в виде мультиэнзимной композиции.

Показатели качества корма в зависимости от способа силосования, например, из силоса на основе трав злаковых культур (мятлик, овсяница, райграс) по продуктам брожения в зависимости от количества комплексного биопрепарата сведены в таблицу 3.

Таблица 3

Способ силосования (компоненты)	Трудногидролизуемые полисахариды, %	Содержание в силосе, %		
		Молочной кислоты	уксусной кислоты	масляной кислоты
Без добавок	28,7	0,47	0,25	0,95
прототип <i>Lactobacillus plantarum</i> +Фермент	28,5	2,71	0,63	0
по изобретению <i>Lactobacillus plantarum</i> + <i>Lactobacillus casei</i> + фермент в виде мультиэнзимной композиции	25,4	3,83	0,81	0

Показатели качества корма в зависимости от способа силосования, например, из силоса на основе трав бобовых культур (люцерна) по продуктам брожения в зависимости от количества комплексного биопрепарата сведены в таблицу 4.

Таблица.4

Способ силосования (компоненты)	Трудногидролизуемы е полисахариды, %	Содержание в силосе, %		
		молочной кислоты	уксусной кислоты	масляной к-ты
Без добавок	10,8	0,35	0,19	0,8
прототип <i>Lactobacillus plantarum</i> +Фермент	10,7	2,34	0,48	0
по изобретению <i>Lactobacillus plantarum</i> + <i>Lactobacillus casei</i> + фермент в виде мультиэнзимной композиции	8,4	3,21	0,64	0

Как следует из данных табл.1-4, при силосовании получаемые корма по изобретению по содержанию и соотношению органических кислот силоса отвечают требованиям 1 и 2 класса (ОСТ 10202-97).

Одним из важнейших показателей оценки качества силоса является показатель наличие масляной кислоты, который является одним из основных показателей недоброкачества заготовленных силосов. В общем количестве органических кислот (молочной, уксусной, масляной) во всех примерах силосования по изобретению наличие масляной кислоты не обнаружено по сравнению с известными способами и равно нулевому значению.

В опытном силосе по изобретению наблюдается повышение уровня молочной кислоты от 3,21 до 5,15 по сравнению с известными способами. Наивысший уровень его установлен в кормах на основе кукурузного силоса и составил 5,15%.

Следовательно, силосование травяной смеси на основе кукурузного силоса с добавлением препарата изобретению *Lactobacillus plantarum* + *Lactobacillus casei* + фермент в виде мультиэнзимной композиции оказало положительное влияние на общую питательность силоса.

Новый препарат и способ силосования способствовали более полному расщеплению клетчатки, сохранению сырого протеина и оптимальной суммы сахаров при оптимальном

уровне pH и соотношении органических кислот, по сравнению с известной технологией в т.ч. и без введения консерванта.

5 Достижение цели при решении поставленной задачи реализовано изобретением путем возможности получения силоса высокого качества из многолетних бобовых трав путем инициирования глубокого гидролиза трудноперевариваемой клетчатки для повышения накопления и образования достаточного количество молочной кислоты, подавляющей жизнедеятельность гнилостной микрофлоры, и снижение себестоимости животноводческой продукции.

10 Целесообразно, чтобы средний размер частиц ферментного состава и носителя находился в области от примерно 100 до 500 мкм или от 150 до 350 мкм, и часть ксиланазы примерно 500-70000, или от 900 до 60000, или от 5400 до 20000 ед/г композиции, и часть целлюлазы примерно от 300 до 10000, или от 2200 до 10000 ед/г композиции, и часть пектиназы примерно 500-15000, или от 800 до 13000, или от 2000 до 11000 ед/г композиции. Процентная часть ксиланазы находится примерно от 1 до 20 мас.%, предпочтительно от 2 до 15 10 мас.% и, в частности, от 2,5 до 5 мас.%, часть целлюлазы примерно от 0,01 до 10 мас.%, предпочтительно от 0,1 до 6 мас.% и, в частности, от 0,2 до 2 мас.% и часть пектиназы примерно от 0,5 до 15 мас.%, предпочтительно от 1 до 13 мас.% и, в частности, от 0,4 до 9 мас.%.

20 Применяемые согласно изобретению ферменты не подлежат никаким ограничениям и могут быть как природного, так и рекомбинантного происхождения. Ферменты могут быть из растений, мицелиарных грибов, из бактерий или дрожжей. Предпочтительными являются ферменты из микробиологических источников, таких как бактерии, дрожжи или мицелиарные грибы. Фермент можно получить из соответствующих микроорганизмов известными методами, которые типично включают культивирование микроорганизмов в пригодной 25 питательной среде и последующее получение фермента или концентрата фермента согласно стандартным методам.

Использование компонентов комплексного биопрепарата вносимого в виде сухой смеси является универсальным, в связи с тем, что введение, хранение и транспортировка сухих смесей расширяет технологические возможности ведение производственного цикла 30 изобретения.

Себестоимость корма, полученного согласно изобретению, по сравнению с известным способом получения силоса из козлятника восточного ниже в 4 раза и не уступает

по качеству силосу, заготовленному с применением смеси препаратов Феркон и Биосиб, благодаря чему себестоимость животноводческой продукции снижается в целом на 10%.

Промышленное освоение изобретения запланировано на территории Беларуси и в странах СНГ.

5

Источники информации.

1. RU № 2271123, МПК A23K 3/00 13.11.2003.

2. RU 2 437 567 C1 A23K 3/00, 2011.12.27.

10 3. Технология силосования высокобелковых многолетних бобовых трав с полиферментным препаратом Феркон, рекомендации, Москва, 2008, ВНИИ кормов им. Вильямса, с.6, 8, 9.

4. Силосование козлятника восточного с использованием полиферментного препарата «Феркон». Богданов Д.В., Сулова И.В., Дуборезов В.М. / Кормопроизводство, № 10, 2008, с.29, 30.

15 5. Победнов Ю.А. Как приготовить качественный силос из трав // Кормопроизводство. 2013. №4. С. 35-37.

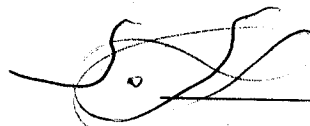
6. RU 2168909 A23K 3/02, 20.06.2001.

20 7. Пристач Н.В., Цой А.А. Эффективность применения биологической добавки Сил-Олл при заготовке силоса // Научный журнал «Известия Санкт-Петербургского государственного аграрного университета». 2007. №6. С. 73-78.

8. RU2 638 188-A23K 30/18 Опубликовано: 2017.12.12-прототип

25

30 Патентный поверенный
Республики Беларусь

 В.А.Хлебцевич

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1.Способ силосования растительного сырья, включающий заготовку силоса путем
кошения, измельчения зеленой массы трав злаковых и бобовых культур, кукурузы и введение
путем орошения в смесь трав молочно-кислых бактерий комплексного биопрепарата на
5 основе бактериальной закваски компонентов *Lactobacillus plantarum* (лактобактерии
плантарум), *Lactobacillus casei* (лактобациллы) и ферментного препарата, отличающийся тем,
что компоненты комплексного биопрепарата вносят в виде сухой смеси, содержащей
консорциум микроорганизмов *Lactobacillus plantarum* и *Lactobacillus casei* (лактобациллы) в
количестве $1 \cdot 10^{11}$ КОЕ/г и ферментного препарата в виде мультиэнзимной композиции на
10 основе: 300-10000 ед/г, ксиланазы – 500-70000 ед/г, пектиназы – 500-15000 ед/г.с
содержанием компонентов ферментного препарата, соответственно, в соотношении: (1-5:1,5-
4,4:6,1-10,2), при этом перед введением в измельченную зеленую массы трав комплексного
биопрепарата готовят рабочий раствор комплексного биопрепарата, в 1 л которого вводят 3-
300 г порошка сухой смеси комплексного биопрепарата и предварительно измельченную
15 зеленую массу трав обрабатывают путем напыления рабочего водного раствора консорциума
микроорганизмов *Lactobacillus plantarum* и *Lactobacillus casei* и ферментного препарата в
соотношении 1 л на 1 т силоса, полученный корм уплотняют и хранят в анаэробных условиях
без доступа солнечного света до 30-60 дней.

2.Способ силосования растительного сырья, по п.1, отличающийся тем., что
20 предварительно осуществляют гомогенизацию компонентов комплексного биопрепарата в
виде сухой смеси путем смесеобразования, при этом *Lactobacillus plantarum* (лактобактерии
плантарум) вводят до антагонистической активности против гнилостных микроорганизмов и
маслянокислых бактерий, препятствуя развитию клостридий путем повышения
осмофильности в растительной массе из трав как с пониженной влажностью (55–65%), так и с
25 повышенной влажностью и до инициирования грамположительных анаэробных
неспорообразующих молочнокислых бактерий, а *Lactobacillus casei* (лактобациллы) вводят
для подавления роста условно-патогенной спорообразующей микрофлоры и
превращения лактозы и углеводов в молочную кислоту, при этом ферментный препарат на
основе целлюлазы, ксиланазы, пектиназы вводят с мальтодекстрином, сахарозой, лактулозой
30 для гидролиза некрахмалистых полисахаридов до олигосахаридов, иницирующих развитие
молочнокислых бактерий в растительной массе из трав.

3.Способ силосования растительного сырья, по п.п.1,2, отличающийся тем., что
орошение смеси трав молочно-кислыми бактериями указанного комплексного биопрепарата

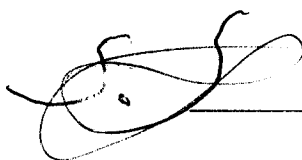
и ферментного препарата осуществляют через систему форсунок туманообразования с применением аэрозольного генератора тумана для повышения скорости инициирования грамположительных анаэробных неспорообразующих молочнокислых бактерий и обработки от вредителей.

5

10

15

Патентный поверенный
Республики Беларусь



В.А.Хлебцевич

20

25

30

ОТЧЕТ О ПАТЕНТНОМ ПОИСКЕ
(статья 15(3) ЕАПК и правило 42 Патентной инструкции к ЕАПК)

Номер евразийской заявки:

202000237

А. КЛАССИФИКАЦИЯ ПРЕДМЕТА ИЗОБРЕТЕНИЯ:

A23K 10/10 (2006.01)

A23K 10/12 (2006.01)

A23K 30/18 (2006.01)

C12R 1/225 (2006.01)

Согласно Международной патентной классификации (МПК)

Б. ОБЛАСТЬ ПОИСКА:

Просмотренная документация (система классификации и индексы МПК)

A23K 10/10, A23K 10/12, A23K 30/18, C12R 1/225

Электронная база данных, использовавшаяся при поиске (название базы и, если, возможно, используемые поисковые термины)

В. ДОКУМЕНТЫ, СЧИТАЮЩИЕСЯ РЕЛЕВАНТНЫМИ

Категория*	Ссылки на документы с указанием, где это возможно, релевантных частей	Относится к пункту №
A	RU 2638188 C2 (ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ НАУЧНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ "ТАТАРСКИЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ СЕЛЬСКОГО ХОЗЯЙСТВА") 12.12.2017	1-3
A	ЛОГВИНОВА А. В. и др. Консервирование растительных кормов (обзор). Труды БГТУ, 2019, серия 2, № 1, с. 103-111, ISSN 2520-2669	1-3
A	RU 2539144 C2 (ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ПРОФЕССИОНАЛЬНОГО ОБРАЗОВАНИЯ "РОССИЙСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ АГРАРНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ - МСХА ИМЕНИ К.А. ТИМИРЯЗЕВА" (ФГБОУ ВПО РГАУ - МСХА ИМЕНИ К.А. ТИМИРЯЗЕВА) 10.01.2015, формула	1-3
A	ШИНКАРЕВИЧ Евгений Дмитриевич. Эффективность применения сухих и жидких форм бактериальных силосных консервантов. Электронный научно-методический журнал Омского ГАУ, 2016, Спецвыпуск №2, с. 1-4, ISSN 2413-4066	1-3

☐ последующие документы указаны в продолжении

* Особые категории ссылочных документов:

«А» - документ, определяющий общий уровень техники

«D» - документ, приведенный в евразийской заявке

«Е» - более ранний документ, но опубликованный на дату подачи евразийской заявки или после нее

«О» - документ, относящийся к устному раскрытию, экспонированию и т.д.

"Р" - документ, опубликованный до даты подачи евразийской заявки, но после даты испрашиваемого приоритета"

«Т» - более поздний документ, опубликованный после даты приоритета и приведенный для понимания изобретения

«Х» - документ, имеющий наиболее близкое отношение к предмету поиска, порочащий новизну или изобретательский уровень, взятый в отдельности

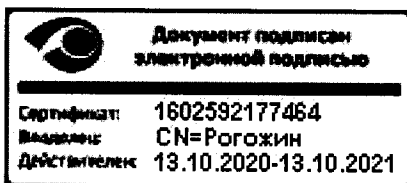
«У» - документ, имеющий наиболее близкое отношение к предмету поиска, порочащий изобретательский уровень в сочетании с другими документами той же категории

«&» - документ, являющийся патентом-аналогом

«L» - документ, приведенный в других целях

Дата проведения патентного поиска: **03/12/2020**

Уполномоченное лицо:
Начальник Управления экспертизы



Д.Ю. Рогожин