

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(21) **202190733** (13) **A1**

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2022.07.29

(51) Int. Cl. **A23K 10/12** (2016.01)

(22) Дата подачи заявки
2021.04.07

**(54) СПОСОБ ПОЛУЧЕНИЯ КОРМОВОЙ ДОБАВКИ ИЗ ОТХОДОВ ПЕРЕРАБОТКИ
СЕМЯН МАСЛИЧНЫХ КУЛЬТУР**

(31) **202092984**

(32) **2020.12.29**

(33) **EA**

(66) **202092984; 2020.12.29**

(71) Заявитель:
СОЙТЭКС ЛТД (СУ)

(72) Изобретатель:

**Горбань Виталий Владимирович,
Сапунова Леонида Ивановна, Ерхова
Людмила Викторовна (ВУ)**

(74) Представитель:
Михайлов А.В. (RU)

(57) Изобретение относится к микробиологии и биотехнологии, к способам получения кормовых добавок для использования непосредственно в рационах животных, птицы, рыбы или для производства комбикормов. Предлагается способ получения кормовой добавки, в котором 1) отходы переработки семян масличных культур увлажняют до 50-95% от полной влагоемкости, 2) добавляют суспензию по меньшей мере одного микроорганизма в экспоненциальной фазе роста, выбранного из группы, включающей представителей родов *Rhodotorula*, *Rhodospiridium*, *Saccharomyces*, *Naumovozyma* и *Paenibacillus*, в количестве 3-10 об.%, 3) проводят ферментацию при температуре 24-30°C и перемешивании в течение 16-48 ч, 4) высушивают при температуре не более 60°C до влажности не более 10%. Получаемый продукт позволяет нормализовать микрофлору ЖКТ, улучшить пищеварение, физическое здоровье, биохимический и иммунный статус, снизить заболеваемость животных, потребляющих добавку, что увеличивает их продуктивность при снижении расхода корма, повышает качество и рентабельность производства продуктов животного происхождения.

A1

202190733

202190733

A1

СПОСОБ ПОЛУЧЕНИЯ КОРМОВОЙ ДОБАВКИ ИЗ ОТХОДОВ ПЕРЕРАБОТКИ СЕМЯН МАСЛИЧНЫХ КУЛЬТУР

Изобретение относится к микробиологии и биотехнологии, к способам получения кормовых добавок для использования в кормопроизводстве. Кормовую добавку, полученную микробной или микробно-энзиматической ферментацией отходов переработки семян масличных культур, вводят непосредственно в рационы животных, птицы, рыбы или используют для производства комбикормов.

УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ

С постоянно увеличивающимся мировым спросом на белок животного происхождения растет востребованность кормов и кормовых добавок, содержащих новые, нетрадиционные источники растительного белка. Это обусловлено, с одной стороны, ограниченностью ресурсов животных белков (рыбной муки, белков молочной сыворотки), которые традиционно используются в составе кормов, с другой стороны, – повышением цены на них. Поэтому внимание исследователей обращено на разработку способов и создание промышленных технологий глубокой переработки белоксодержащих отходов растительного происхождения, что стало экономически состоятельным благодаря использованию достижений современной микробиологии, энзимологии и биотехнологии.

Среди отходов переработки растительного сырья особое место занимают шроты и/или жмыхи семян масличных культур. Это, прежде всего, соевый шрот, который среди других субстратов выделяется высоким содержанием белка с наиболее полноценным составом аминокислот. Однако соевый шрот, как и другие отходы масложировой промышленности, содержит большое количество некрахмалистых полисахаридов (клетчатки, арабиноксиланов, бета-глюканов, фитатов), антипитательных веществ (ингибиторов трипсина, уреазы, липоксигеназы, лектинов и др.), которые обуславливают низкую кормовую ценность названных источников белка, ограничивают их использование, особенно в рационах молодняка животных.

Устранение антипитательного эффекта отдельных компонентов растительных кормов, повышение их перевариваемости и усвояемости при одновременном увеличении содержания белка влечет за собой

укрепление физического и репродуктивного здоровья животных, птицы, рыбы, снижение их заболеваемости и повышение продуктивности. Как следствие, растет рентабельность производства продуктов животного происхождения, повышается их качество.

Проблему качества кормов, особенно перевариваемость и усвояемость входящих в их состав компонентов растительного происхождения, преодолевают несколькими путями.

Наиболее простым из них является разработка кормовых смесей на основе компонентов (добавок) различного состава и действия, в том числе коммерчески производимых.

Техническую задачу повысить питательную ценность рациона крупного рогатого скота решает способ получения гомогенизированной кормовой смеси, которая помимо 10–30 % измельченной трудно перевариваемой соломы включает 5–35 % кукурузы, 10–30 % ячменя, 12–30 % сои, 1–20 % мелассы и 0,5–10 % смеси витаминов [1].

Способ получения легкоусвояемого комбикорма для поросят с противодиарейным действием предусматривает механическое смешивание высушенных и измельченных листьев, незрелых и зрелых плодов гуавы в соотношении 40:25:35 (3–5 %), соевого шрота (8–15 %), воздушной кукурузы (40–50 %), воздушной сои (5–10 %), рыбной муки (3–8 %), белка плазмы крови (3–8 %), сыворотки (8–15 %), жира (1–5 %), белого сахара (1–5 %) и премикса (3–5 %) [2]. Использование комбикорма разработанного состава приводит к улучшению здоровья поросят, сокращению времени откорма и увеличению убойного веса, что повышает экономические показатели производства свинины.

В предлагаемых способах повышение питательной ценности кормов, содержащих трудно усваиваемые компоненты растительного происхождения, осуществляется только за счет введения дополнительных источников растительного и/или животного белка, биологически активных соединений. При этом в составе компонентов корма остается высокой концентрация антипитательных веществ и трудноперевариваемых некрахмалистых полисахаридов.

Более эффективным, чем получение кормовых смесей, является получение кормов и кормовых добавок из растительного сырья и отходов его переработки с использованием физико-химических методов. Разрабатываемые технические решения направлены на повышение питательной ценности кормов растительного происхождения и их перевариваемости. В их основе лежит термическая или лучевая обработка сырья, которая может быть реализована путем замачивания, пропаривания, прожаривания, экструдирования, облучения и т.п., а также их комбинированием. Как правило, кратковременное тепловое воздействие на цельное или измельченное зерно или отходы его переработки сопровождается незначительной денатурацией белка и снижением содержания антипитательных веществ до нормированной величины.

Предложен способ обработки необезжиренных бобов сои, который включает в себя следующие этапы: замачивание в воде (≥ 3 часов), удаление влаги в потоке воздуха ($60\text{ }^{\circ}\text{C}$), одновременно выполняемую тепловую СВЧ-обработку (90°C) и сушку [3]. Реализация способа позволяет получить соевые бобы целостной формы, в которых содержание антипитательных веществ (ингибиторов трипсина, влияющих на переваримость белка, и лектинов, оказывающих токсическое воздействие на функцию желудочно-кишечного тракта) снижено до безопасного уровня.

Известен способ обработки полножирной сои, включающий замачивание зерна в водно-солевом растворе макро-, микроэлементов (5–8 часов), тепловую обработку ($125\text{--}150\text{ }^{\circ}\text{C}$), сушку ($85\text{--}95\text{ }^{\circ}\text{C}$, 12–18 минут) до остаточной влажности 18–28 %, смешивание с сухими белковыми компонентами, охлаждение, измельчение, гранулирование ($35\text{--}65\text{ }^{\circ}\text{C}$) с одновременным вводом пробиотиков [4]. Осуществление способа позволяет частично нейтрализовать антипитательные вещества зерна сои, не ухудшая качество белка, равномерно внести макро- и микроэлементы, получить кормовой продукт сбалансированного по основным элементам питания состава, повышенной усвояемости, улучшенного вкуса.

Способ инактивации антипитательных веществ зерна сои предусматривает их прожаривание ($120\text{--}140\text{ }^{\circ}\text{C}$, 3–6 минут),

дробление и измельчение [5]. Полученную муку, сохраняющую большую часть питательных веществ, приобретающую приятный аромат и вкус, используют как белковый компонент комбикормов или как самостоятельную белковую кормовую добавку улучшенной поедаемости.

Особенность приведенных выше способов состоит в том, что снижение концентрации термолабильных антипитательных веществ (уреазы, ингибиторов трипсина, бета-конглицинина, лектинов и др.) в получаемых кормовых продуктах возможно только до строго регламентируемого безопасного уровня. Содержание же белка в продукте, как правило, не увеличивается, а его переваримость из-за жесткой термической обработки часто снижается. Не меняется также концентрация трудноперевариваемых некрахмалистых полисахаридов – арабиноксилана, бета-глюкана, фитата.

Наиболее эффективным способом увеличения концентрации протеина, снижения содержания антипитательных веществ вплоть до их полного удаления из растительного сырья, повышения его питательной ценности, перевариваемости и усвояемости представляется использование микробных и ферментных биотехнологий, часто комбинируемых с физико-химическим воздействием.

Известен способ получения протеинового порошка [6], предусматривающий высокотемпературную (110–120 °C) обработку соевого жмыха давлением ($1,5 \times 10^5$ Па, 0,5–1 час), его дальнейшую ферментацию бактериями рр. *Bacillus*, *Lactobacillus* или дрожжами при температуре 20–35 °C в течение 24 часов, сушку распылением и просеивание. Получают белковый продукт, обогащенный легкоусвояемыми аминокислотами, обладающий высокой питательной ценностью.

Предложен двухэтапный способ получения ферментированного кормового продукта, для чего на первом этапе проводят отдельное измельчение соевых бобов и земляного червя, ферментацию смеси белковых субстратов культурой *Bacillus subtilis* (10^6 – 10^8 КОЕ/мл, соотношение с субстратом 1:12 – 1:15) при температуре 20–50 °C в течение 12–72 ч, повторную термообработку (≥ 100 °C, 10–40 мин) и сушку ферментированной смеси до влажности ≤ 10 %. Второй этап –

собственно составление рецептуры корма, основным компонентом которого является ферментированный продукт (60–100 %), а также рыбная мука (40–0 %), крахмал (10–20 %), рыбий жир, соевое масло или их смесь (0,1–2,0 %), витамины (1–3 %) и микроэлементы (1–3 %) [7]. Труднодоступность одного из компонентов ферментационной смеси (земляного червя) и его использование как источника протеина и незаменимых аминокислот животного происхождения являются основными недостатками рассматриваемого способа.

Способ получения ферментативного гидролизата шрота или жмыха масличного сырья (подсолнечника, сои, рапса, льна или технической конопли) реализуют следующим образом: сырье влажностью 10–30 % экструдировать при температуре 90–180 °С, после чего экструдат обрабатывают ферментами протеолитического и/или целлюлолитического и/или альфа-галактозидазного действия. При этом не менее 50 % массы воды вводят в зону выхода экструдата для его охлаждения, а остальную ее часть подают в гидролитическую камеру в виде раствора ферментного препарата [8]. Изобретение позволяет интенсифицировать процесс гидролиза шротов и жмыхов семян масличных культур с использованием термолабильных ферментных препаратов непосредственно после экструдирования в гидролитической камере, а также упростить машинно-аппаратное оформление процесса. Однако его недостатком является необходимость подбирать специфичность используемых ферментных препаратов исходя из состава биополимеров перерабатываемого сырья. Содержание протеина в получаемом белковом продукте не раскрывается.

Способ изготовления твердого биопродукта [9] позволяет гидролизовать неперевариваемые растительные олигосахариды (раффинозу, стахиозу и вербакозу) с образованием легко метаболизируемых моно- и дисахаридов. Техническое решение включает: 1) гидратацию измельченной биомассы, содержащей олигосахариды, белковые части бобовых (соя, боб, горох, люпин) и/или зерновых (пшеница) растений и/или их семян (рапс), и/или семян трав, полножировых или обезжиренных, до влажности ≤ 65 %; 2) обработку биомассы одним или несколькими ферментными

препаратами, содержащими α -галактозидазу (5 000 ед/г), в дозе 0,001–1,0 масс. % от сухого вещества биомассы при температуре 20–65 °С в течение 0,15–36 часов при постоянном перемешивании в условиях периодического, периодического с подпиткой или непрерывного процесса; возможно, с последующей дополнительной микробной ферментацией субстрата; 3) инактивацию α -галактозидазы при 70–150 °С в течение 0,5–240 минут; 4) сушку полученного ферментированного биопродукта до содержания влаги ≤ 10 %. Способ позволяет получить ферментированный продукт с содержанием протеина в ферментированном продукте до 59,6–62,2 % и редуцированным количеством неперевариваемых олигосахаридов. Концентрация в нем других антипитательных веществ не указывается. Однако в отдельных случаях для достижения указанного результата требуется дополнительная микробная ферментация белковых субстратов бактериями *Bacillus cereus*, дрожжами *Saccharomyces cerevisiae* или дрожжами, утилизирующими C_5 -углеводы (0,25–10 масс. %). Кроме того, высокое содержание протеина в ферментированном продукте достигается преимущественно за счет использования высокобелковых частей бобовых и зерновых растений.

Способ получения ферментированного протеинового продукта фармацевтического, косметического, пищевого и кормового назначения [10] предусматривает увлажнение водопроводной водой хлопьев сои, гороха, люпина; смеси хлопьев сои и гороха, смеси хлопьев сои и люпина, смеси хлопьев гороха и люпина или смеси хлопьев сои, гороха и люпина, экструдирование при 150 °С, охлаждение до 50 °С, добавление отработанных пивных дрожжей (в соотношении с белковой составляющей от 1 : 2 до 1 : 100), фитазы (BASF, Natuphos) и, при необходимости, одного или несколько ферментов, выбранных из числа протеаз, пептидаз, галактозидаз, амилаз, пектиназ, гемицеллюлаз, липаз и фосфолипаз. Далее осуществляют перемешивание, анаэробное инкубирование смеси сначала при 25–60 °С в течение 1–12 часов, а затем при 70–150 °С в течение 0,5–240 минут. Сушку полученного продукта с содержанием сырого протеина 58,3 % и редуцированным содержанием антипитательных компонентов (фитат-связанного фосфора,

олигосахаридов, ингибиторов трипсина, бета-конглицинина, лектинов) проводят в условиях, когда температура частиц не превышает 85 °С.

Однако указанный способ имеет ряд недостатков: использование обладающих высокой добавленной стоимостью предварительно обезвоженных, обезжиренных, мгновенно десольвентизированных и экстрадированных хлопьев сои, гороха, люпина или их смесей с высоким исходным содержанием протеина; добавление ароматических веществ (3-гидрокси-2-бутанона, 3-метил-1-бутанола, этилооктаноата и этилдеcanoата) для придания готовому ферментированному продукту приятного запаха и вкуса; большой расход микробной составляющей (до 50 %); отсутствие критериев, позволяющих оценить необходимость добавления в ферментационную смесь тех или иных ферментов.

Известен также способ получения биологически активной кормовой добавки [11], который включает измельчение растительного сырья (шелухи семян подсолнечника, гречихи, проса, овса, рапса) до размера частиц ≤ 1 мм (60–85 %); отбор культур бактерий из пищеварительного тракта (ротовой полости, зоба, преджелудка, кишечника) или экскрементов растительноядных животных; получение посевного материала; твердофазную или жидкофазную микробную ферментацию указанного целлюлозосодержащего сырья в факультативно-анаэробных условиях при температуре 18–70 °С в течение 5–48 ч до достижения в ферментационной среде определенной величины целлюлазной активности (не менее 90 ед/г сухого продукта). Ферментацию проводят монокультурой, ассоциацией микроорганизмов или комплексом, состоящим из ассоциации микроорганизмов и, по крайней мере, одного дополнительного штамма микроорганизмов, относящихся к родам *Bacillus*, *Clostridium*, *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Streptococcus*, *Micrococcus*, *Ruminococcus*, *Proteus*, *Enterobacter*, *Escherichia*, *Klebsiella*, *Pseudomonas*, *Brevibacterium*.

К существенным недостаткам способа следует отнести сложность его исполнения и недостаточную воспроизводимость. Это обусловлено необходимостью постоянного выделения отдельных

микроорганизмов и/или их ассоциаций из пищеварительного тракта или экскрементов растительноядных животных, находящихся на определенной диете; необходимостью получения накопительных микробных культур, разных для разных групп животных; непредсказуемостью качественного и количественного состава получаемой ассоциации, ее жизнеспособности. Отсутствие в описании патента данных о содержании протеина, клетчатки и обменной энергии в исходном сырье, не позволяет оценить эффективность его микробной ферментации.

Наиболее близким к заявляемому техническому решению является способ переработки соевого шрота в кормовой продукт с улучшенными свойствами [12], который предусматривает обязательную экструзионную обработку шрота влажностью 15–25 % при температуре 80–150 °С в течение 1 минуты, охлаждение до температуры менее 60 °С, обязательное измельчение и обработку раствором ферментов (протеазы и, при необходимости, альфа-галактозидазы, фитазы, липазы, целлюлазы и/или гемицеллюлазы) и микроорганизмы – молочнокислые бактерии, симбиоз молочнокислых бактерий, сенной палочки и/или дрожжей. Микробно-энзиматическую ферментацию соевого шрота влажностью 40–90 % ведут при температуре 35–60 °С и pH 4,0–8,0 в течение 6–48 часов. Готовый кормовой продукт сушат при температуре 40–60 °С, после чего охлаждают до 25–30 °С, измельчают до частиц размером 100–500 мкм, фасуют и упаковывают.

Полученный при реализации способа кормовой продукт характеризуется по сравнению с исходным соевым шротом повышенным не менее чем на 5 % содержанием белка и пониженным не менее чем на 95 % количеством антипитательных веществ (уреазы, ингибиторов трипсина, глицинина, бета-конглицинина, сапонинов, лектинов, олигосахаридов). Улучшение органолептических свойств получаемого продукта способствует повышенной поедаемости кормов.

Недостатком рассматриваемого способа является возможность переработки только одного вида отходов масложировой промышленности (соевого шрота). Способ не распространяется на другие, более трудноусвояемые организмом животных отходы – шроты (жмыхи) подсолнечника, рапса, других растений и/или их смеси,

что существенно ограничивает область его применения. Кроме того, предусмотренная способом практика поэтапного добавления ферментов и молочнокислых бактерий и/или симбиоза микроорганизмов сопряжена с изменением условий в ходе ферментации (температуры, скорости перемешивания, объема подаваемого воздуха), что усложняет процесс, снижает его энергоэффективность. В описании изобретения акцентируется внимание на использование ферментов, участвующих в разрушении клетчатки (целлюлаза) и фитатов (фитаза) соевого шрота, однако данные об остаточной концентрации этих соединений в ферментированном продукте отсутствуют.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ СУЩНОСТИ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Изобретение относится к микробиологии и биотехнологии, к способам получения кормовых добавок для использования непосредственно в рационах животных, птицы, рыбы или для производства комбикормов.

Предлагается кормовая добавка, которую получают путем микробной или микробно-энзиматической ферментации отходов масложировой промышленности, представленных шротом (жмыхом) семян масличных культур – сои, подсолнечника, рапса или их смесями.

Для микробной ферментации может быть использован один или более микроорганизмов, выбранных из группы, включающей представителей родов *Rhodotorula*, *Rhodospiridium*, *Saccharomyces*, *Naumovozyma*, *Paenibacillus*, которые продуцируют белок, биологически активные метаболиты, включая комплекс ферментов, катализирующих разрушение антипитательных и трудноперевариваемых веществ растительного происхождения. Для микробно-энзиматической ферментации одновременно с микроорганизмами используют ферменты в количестве 0,05–0,5 % к массе сухого вещества сырья. В качестве ферментов используют один или более ферментов, выбранных из числа протеаз, пептидаз, амилаз, альфа-галактозидаз, маннаназ, пектиназ, бета-глюканаз, ксиланаз, эндоглюканаз (целлюлаз), фитаз, липаз, или комплексный ферментный препарат.

Кормовая добавка, полученная при реализации изобретения, характеризуется по сравнению с исходным сырьем повышенным на 3,0–7,8 % содержанием сырого протеина, на 7,8–8,4 % – незаменимых аминокислот, на 46,2–50,0 % – усвояемого фосфора при сниженном содержании антипитательных веществ: сырой клетчатки – на 37,5–42,3 % , фитинового фосфора на 24,4–29,3 %, ингибиторов трипсина – на 95,2–100 %, глицинина, бета-конглицинина, лектинов – на 95,5–96,3 %, олигосахаридов – на 92,8–95,8 %, активности уреазы – на 98,3–100 %. Добавка содержит также пробиотические микроорганизмы в количестве $3,5 \times 10^7$ – $2,5 \times 10^9$ КОЕ/г.

Модифицированный по сравнению с исходным сырьем биохимический состав кормовой добавки обуславливает ее высокую усвояемость, энергетическую и питательную ценность, улучшенные органолептические свойства и поедаемость.

Содержащиеся в кормовой добавке пробиотические микроорганизмы и биологически активные продукты их метаболизма (ферменты, олиго- и полисахариды, каротиноиды, витамины, пептиды и др.) придают ей про- и пребиотические, антимикробные, иммуномодулирующие, гепатопротекторные, антиоксидантные, сорбционные, ростактивирующие свойства. Совокупность указанных свойств позволит нормализовать микрофлору ЖКТ, улучшить пищеварение, физическое здоровье, биохимический и иммунный статус, снизить заболеваемость животных, потребляющих добавку, что повысит их продуктивность при снижении расхода корма, повысит качество и рентабельность производства продуктов животного происхождения.

СУЩНОСТЬ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Задача изобретения состоит в разработке ресурсосберегающего способа получения кормовой добавки повышенной питательной ценности и усвояемости, упрощение и удешевление процесса ее получения, а также расширение ассортимента кормовых добавок, в том числе полифункциональных, содержащих живые (активные) дрожжевые грибы и/или бактерии.

Технический результат, получаемый при реализации изобретения, заключается в получении из отходов переработки семян масличных культур (шрота и/или жмыха семян рапса, сои,

подсолнечника или их смесей) кормовой добавки, которая по сравнению с исходным сырьем характеризуется повышенным содержанием сырого протеина, незаменимых аминокислот и усвояемого фосфора; пониженным содержанием антипитательных компонентов – сырой клетчатки, фитатного фосфора, олигосахаридов, ингибиторов трипсина, активности уреазы, лектинов, глицинина и бета-конглицинина; наличием пробиотических микроорганизмов и биологически активных продуктов их метаболизма.

Указанная задача решена благодаря тому, что в предлагаемом способе получения кормовой добавки

1) отходы переработки семян масличных культур увлажняют до 50–95 % от полной влагоемкости,

2) добавляют суспензию по меньшей мере одного микроорганизма в экспоненциальной фазе роста, выбранного из группы, включающей представителей родов *Rhodotorula*, *Rhodospiridium*, *Saccharomyces*, *Naumovozyma* и *Paenibacillus*, в количестве 3–10 об. %,

3) проводят ферментацию при температуре 24–30 °С и перемешивании в течение 16–48 часов,

4) высушивают при температуре не более 60 °С до влажности не более 10 %.

В одном из предпочтительных вариантов осуществления способа отходы переработки семян масличных культур увлажняют до 50–70 % от полной влагоемкости, а ферментацию проводят в течение 36–48 часов (далее – способ по варианту 1).

В другом предпочтительном варианте осуществления способа исходное сырье увлажняют до 90–95 % от полной влагоемкости, а ферментацию проводят в течение 16–36 часов (далее – способ по варианту 2).

Высушивание, – в одном из предпочтительных вариантов осуществления способа, – осуществляют до влажности самое большее 10 %.

В качестве исходного сырья для получения кормовой добавки используют отходы переработки семян масличных культур. В одном из предпочтительных вариантов осуществления способа используют

шрот и/или жмых, по меньшей мере, одного вида семян, выбранных из группы, включающей семена рапса, сои и подсолнечника.

Исходное сырье при наличии крупных трудногидратируемых комков предварительно экструдируют и/или измельчают любым известным методом.

При необходимости, например, в случае излишней контаминации исходного сырья микрофлорой, его стерилизуют, используя острый пар, нагретый воздух, ионизирующее излучение или любой другой метод, в зависимости от наличия той или иной аппаратуры.

В качестве суспензии микроорганизмов, в одном из предпочтительных вариантов осуществления способа, используют суспензию, по меньшей мере, одного микроорганизма, выбранного из группы, включающей *Rhodotorula glutinis*, *Naumovozyma castellii*, и *Paenibacillus nicotianae*, предпочтительно суспензию, по меньшей мере, одного микроорганизма, выбранного из группы, включающей штамм ST-1 дрожжевого гриба *Rhodotorula glutinis*, депонированный в Белорусской коллекции непатогенных микроорганизмов под номером У-338 Д, штамм ST-2 дрожжевого гриба *Naumovozyma castellii*, депонированный в Белорусской коллекции непатогенных микроорганизмов под номером У-339 Д, и/или штамм ST-3 дрожжевого гриба *Rhodotorula glutinis*, депонированный в Белорусской коллекции непатогенных микроорганизмов под номером У-340 Д, и бактериальный штамм ST-4 *Paenibacillus nicotianae*, депонированный в Белорусской коллекции непатогенных микроорганизмов под номером В-1461 Д.

Указанные пробиотические микробные культуры (живые дрожжевые грибы и/или бактерии) являются аэробными и за счет потребления кислорода и органических кислот, синтезируемых аборигенной анаэробной микрофлорой, и продукции гидролитических ферментов, расщепляющих полимеры растительных кормов, нормализуют микробиоценоз, улучшают пищеварение в различных отделах желудочно-кишечного тракта, особенно в рубце жвачных животных. Синтезируемые микроорганизмами каротиноиды обуславливают антиоксидантные и ростактивирующие свойства; олигосахариды – пребиотическое действие; полисахариды – иммуномодулирующее, гепатопротекторное и детоксикационное (энтеросорбционное)

действие; пептиды (продукты ферментативного гидролиза протеинов) – антимикробный эффект, что в совокупности повышает ценность и эффективность кормовой добавки.

Одновременно с суспензией микроорганизмов, еще в одном из предпочтительных вариантов осуществления способа, дополнительно вводят раствор, содержащий ферменты в количестве 0,05–0,5 % к массе сухого вещества отходов переработки семян масличных культур, предпочтительно, по меньшей мере, один фермент, выбранный из группы, включающей протеазы, пептидазы, амилазы, альфа-галактозидазы, маннаназы, пектиназы, бета-глюканазы, ксиланазы, эндоглюканазы, целлюлазы, фитазы и липазы.

Указанная задача также решена благодаря тому, что предложена кормовая добавка, полученная вышеописанным способом.

Полученная при реализации изобретения кормовая добавка превосходит исходное сырье по содержанию сырого протеина на 3,0–7,8 %, в том числе полученная из шрота (жмыха) семян сои – на 5,1–7,8 %, рапса – на 3,1–4,8 %, подсолнечника – на 3,0–5,4 %, их смеси различного качественного и количественного состава – на 4,1–6,1 %. При этом в ней содержится больше незаменимых аминокислот на 7,8–8,4 %, усвояемого фосфора – на 46,2–50,0 %; меньше сырой клетчатки – на 37,5–42,3 %, фитинового фосфора – на 24,4–29,3 %, активности уреазы – на 98,3–100 %, ингибиторов трипсина – на 95,2–100 %, глицинина, бета-конглицинина, лектинов – на 95,5–96,3 %, олигосахаридов – на 92,8–95,8 %. Добавка содержит также пробиотические микроорганизмы в количестве $3,5 \times 10^7$ – $2,5 \times 10^9$ КОЕ/г.

Улучшенный по сравнению с исходным сырьем биохимический состав получаемой кормовой добавки обуславливает ее более высокую усвояемость, энергетическую и питательную ценность, поедаемость за счет улучшенных органолептических свойств.

Кормовая добавка, получаемая согласно предлагаемому способу, предназначена для непосредственного введения в рационы сельскохозяйственных животных, птицы, рыбы или для использования в качестве компонента комбикормов.

Предлагаемый способ позволяет:

- использовать в качестве исходного сырья для получения кормовой добавки не только соевый шрот, но и другие отходы масложирового производства – шрот и/или жмых семян рапса, сои, подсолнечника или их смеси;
- применять предварительную экструзию и стерилизацию исходного сырья при необходимости, например, для устранения его излишней микробной контаминации;
- проводить предварительное измельчение исходного сырья только при наличии в нем трудногидратируемых крупных комков;
- получить кормовую добавку путем не только микробно-энзиматической, но также и микробной ферментации;
- придать получаемой кормовой добавке дополнительные полезные свойства за счет наличия в ней живых (активных) микроорганизмов и продуктов их метаболизма;
- упростить и удешевить процесс получения из отходов переработки семян масличных культур кормовых продуктов улучшенного качества, увеличить их ассортимент.

Способ получения кормовой добавки путем микробной или микробно-энзиматической ферментации отходов переработки масличных культур иллюстрируют, но не ограничивают, следующие примеры.

ОСУЩЕСТВЛЕНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Для ферментации отходов переработки семян масличных культур (шрота, жмыха и/или их смеси) используют про- и эукариотические микроорганизмы, которые принадлежат дрожжевым грибам родов *Rhodotorula*, *Rhodosporidium*, *Saccharomyces*, *Naumovozyma*, бактериям рода *Paenibacillus*, в том числе штаммы *Rhodotorula glutinis* ST-1, *Naumovozyma castellii* ST-2, *Rhodotorula glutinis* ST-3, *Paenibacillus nicotianae* ST-4.

Характеристика штамма *Rhodotorula glutinis* ST-1

Штамм *Rhodotorula glutinis* ST-1 выделен с поверхности сквашенного молока, идентифицирован на основании результатов изучения культурально-морфологических, физиолого-биохимических признаков, данных сравнительного анализа нуклеотидной последовательности гена 18S рРНК.

Культурально-морфологические особенности штамма Rhodotorula glutinis ST-1: капсулированные дрожжи. На 3-и сутки роста при 27 °С на сусло-агаре колонии круглые, с ровным краем, диаметром 2–3 мм, выпуклые, гладкие, непрозрачные, розового цвета. Характер поверхности – слизистый, блестящий. Консистенция вязкая. На пептонно-дрожжевом агаре на 3-и сутки роста при 27 °С колонии розового цвета, мелкие, гладкие, с ровным краем.

Физиолого-биохимические особенности штамма Rhodotorula glutinis ST-1: облигатный аэроб, оптимальные условия роста – pH 5,5–6,0 и температура 25–27 °С. Хемоорганотроф. В качестве источника азота использует минеральные соединения в аммонийной форме, а также органические вещества – пептон, триптон, дрожжевой экстракт. В качестве источника углерода утилизирует простые и сложные углеводы: глюкозу, сахарозу. Гидролизует казеин, пектин, липиды, жирные кислоты, целлюлозу. Молоко не пептонизирует, желатину не разжижает. Синтезирует каротиноиды, полисахариды, комплекс внеклеточных ферментов, включая амилазу, протеазу, пектиназу, эстеразу, липазу, альгинатлиазу, фитазу, целлюлазу.

Условия поддержания штамма Rhodotorula glutinis ST-1: без потери культурально-морфологических и физиолого-биохимических свойств, включая ферментативную активность, хранится при +4...+6 °С методом периодических пересевов на сусло-агар с частотой 1 раз в 6–12 месяцев.

Безвредность штамма Rhodotorula glutinis ST-1 не является генетически модифицированным и не содержит генов других организмов; перенесенных генов резистентности; генетических изменений, связанных с использованием генно-технических методик. Штамм является непатогенным и безвредным для лабораторных животных, не обладает токсичностью, аллергенностью и токсигенными свойствами.

Штамм *Rhodotorula glutinis* ST-1 депонирован в Белорусской коллекции непатогенных микроорганизмов Государственного научного учреждения «Институт микробиологии Национальной академии наук Беларуси» под регистрационным номером БИМ Y-338 Д (справка о депонировании прилагается).

Характеристика штамма *Naumovozyma castellii* ST-2

Штамм *Naumovozyma castellii* ST-2 выделен с поверхности сбродившего варенья, идентифицирован на основании результатов изучения культурально-морфологических, физиолого-биохимических признаков, данных сравнительного анализа нуклеотидной последовательности гена 18S рРНК.

Культурально-морфологические особенности штамма Naumovozyma castellii ST-2: капсулированные дрожжи. На 3-и сутки роста при 27 °С на сусло-агаре колонии круглые, с ровным краем, диаметром 2–3 мм, выпуклые, гладкие, непрозрачные, белого цвета. Характер поверхности – слизистый, блестящий. Консистенция вязкая. На пептонно-дрожжевом агаре на 3-е сутки роста при 27 °С колонии белого цвета, диаметром 0,5–1 мм, круглые, выпуклые.

Физиолого-биохимические особенности штамма Naumovozyma castellii ST-2: Облигатный аэроб, оптимальные условия роста – рН 5,5–6,0 и температура 25–27 °С. Хемоорганотроф. В качестве источника азота использует минеральные соединения в аммонийной форме, а также органические вещества – пептон, триптон, дрожжевой экстракт. В качестве источника углерода утилизирует простые и сложные углеводы: глюкозу, сахарозу, мальтозу. Гидролизует крахмал, казеин, пектин, целлюлозу, липиды, жирные кислоты. Молоко не пептонизирует, желатину не разжижает. Синтезирует экзополисахариды, амилазу, протеазу, пектиназу, альфа-галактозидазу, эстеразу, липазу, целлюлазу.

Условия поддержания штамма Naumovozyma castellii ST-2: без потери культурально-морфологических и физиолого-биохимических свойств, включая ферментативную активность, хранится при +4...+6°С методом периодических пересевов на сусло-агар с частотой 1 раз в 6–12 мес.

Безвредность штамма Naumovozyma castellii ST-2: не является генетически модифицированным и не содержит генов других организмов; перенесенных генов резистентности; генетических изменений, связанных с использованием генно-технических методик. Штамм является непатогенным и безвредным для лабораторных животных, не обладает токсичностью, аллергенностью и токсигенными свойствами.

Штамм *Naumovozyma castellii* ST-2 депонирован в Белорусской коллекции непатогенных микроорганизмов Государственного научного учреждения «Институт микробиологии Национальной академии наук Беларуси» под регистрационным номером БИМ Y-339 Д (справка о депонировании прилагается).

Характеристика штамма *Rhodotorula glutinis* ST-3

Штамм *Rhodotorula glutinis* ST-3 выделен с поверхности сквашенного молока, контаминированного посторонней микробиотой, идентифицирован на основании результатов изучения культурально-морфологических и физиолого-биохимических признаков, данных сравнительного анализа нуклеотидной последовательности гена 18S рРНК.

Культурально-морфологические особенности штамма *Rhodotorula glutinis* ST-3: капсулированные дрожжи. На 3-и сутки роста при 27 °С на сусло агаре колонии круглые, с ровным краем, диаметром 2-3 мм, выпуклые, гладкие, непрозрачные, красно-оранжевого цвета. Характер поверхности – слизистый, блестящий. Консистенция вязкая. На пептонно-дрожжевом агаре на 3-и сутки роста при 27 °С колонии оранжевого цвета, диаметром 1-2 мм, круглые, с ровным краем.

Физиолого-биохимические особенности штамма *Rhodotorula glutinis* ST-3: облигатный аэроб, оптимальные условия роста – pH 5,5-6,0 и температура 25-27 °С. Хемоорганотроф. В качестве источника азота использует минеральные соединения в аммонийной форме, а также органические вещества – пептон, триптон, дрожжевой экстракт. В качестве источника углерода утилизирует простые и сложные углеводы: глюкозу, сахарозу. Гидролизует казеин, пектин, целлюлозу, липиды, жирные кислоты. Молоко не пептонизирует, желатину не разжижает. Синтезирует каротиноиды, полисахариды, комплекс внеклеточных ферментов, включая протеазу, пектиназу, эстеразу, липазу, фитазу, целлюлазу.

Условия поддержания штамма *Rhodotorula glutinis* ST-3: без потери культурально-морфологических и физиолого-биохимических свойств, включая ферментативную активность, хранится при +4...+6 °С методом периодических пересевов на сусло-агар с частотой 1 раз в 6-12 месяцев.

Безвредность штамма *Rhodotorula glutinis* ST-3: не является генетически модифицированным и не содержит генов других организмов; перенесенных генов резистентности; генетических изменений, связанных с использованием генно-технических методик. Штамм является непатогенным и безвредным для лабораторных животных, не обладает токсичностью, аллергенностью и токсигенными свойствами.

Штамм *Rhodotorula glutinis* ST-3 депонирован в Белорусской коллекции непатогенных микроорганизмов Государственного научного учреждения «Институт микробиологии Национальной академии наук Беларуси» под регистрационным номером БИМ У-340 Д (справка о депонировании прилагается).

Характеристика штамма *Paenibacillus nicotianae* ST-4

Штамм *Paenibacillus nicotianae* ST-4 выделен из зерна сельскохозяйственных культур (Могилевская обл.), идентифицирован на основании результатов изучения культурально-морфологических и физиолого-биохимических признаков, данных сравнительного анализа нуклеотидной последовательности гена 16S рРНК.

*Культурально-морфологические особенности штамма *Paenibacillus nicotianae* ST-4 (БИМ В-1461 Д):* грамположительные спорообразующие подвижные палочки. На агаризованной среде Чапека при 27–29 °С на 3-и сутки роста формирует слизистые колонии размером 2–3 мм, прозрачные, неправильно круглой формы, выпуклые, гладкие, с ровным краем. Консистенция вязкая. На пептонно-дрожжевом агаре на 3-и сутки роста колонии 2–3 мм в диаметре, выпуклые, гладкие, бежевого-розового цвета, с неровными краями.

*Физиолого-биохимические особенности штамма *Paenibacillus nicotianae* ST-4 (БИМ В-1461 Д):* облигатный аэроб, оптимальные условия роста – pH 6,5 и температура 27–29 °С. Хемоорганотроф. В качестве источника азота использует минеральные соединения в аммонийной форме, а также органические вещества – пептон, триптон, дрожжевой экстракт, аминокислоты и т.д. В качестве источника углерода утилизирует простые и сложные углеводы: мальтозу, глюкозу, сахарозу, маннан, лактозу. Гидролизует крахмал, казеин, пектин, лактозу, липиды, целлюлозу, β-глюкан,

жирные кислоты. Молоко не пептонизирует, желатин не разжижает. Синтезирует полисахариды и комплекс ферментов, гидролизующих полимеры растительных клеточных стенок, – протеазу, амилазу, целлюлазу, бета-глюканазу, ксиланазу, пектиназу, липазу, эстеразу.

Условия поддержания штамма *Paenibacillus nicotianae* ST-4 (БИМ В-1461 Д): без потери культурально-морфологических и физиолого-биохимических свойств, включая ферментативную активность, хранится при +4...+6 °С методом периодических пересевов на мясопептонный агар с частотой 1 раз в 6–12 месяцев.

Безвредность штамма *Paenibacillus nicotianae* ST-4 (БИМ В-1461 Д): не является генетически модифицированным и не содержит генов других организмов; перенесенных генов резистентности; генетических изменений, связанных с использованием генно-технических методик. Штамм является непатогенным и безвредным для лабораторных животных, не обладает токсичностью, аллергенностью и токсигенными свойствами.

Штамм *Paenibacillus nicotianae* ST-4 депонирован в Белорусской коллекции непатогенных микроорганизмов Государственного научного учреждения «Институт микробиологии Национальной академии наук Беларуси» под регистрационным номером БИМ В-1461 Д (справка о депонировании прилагается).

Микроорганизмы указанных выше групп обладают пробиотическими свойствами, а синтезируемые ими биологически активные метаболиты (ферменты, олиго- и полисахариды, каротиноиды, витамины, пептиды и др.) – пребиотическим, антимикробным, иммуномодулирующим, гепатопротекторным, антиоксидантным, сорбционным, ростактивирующим действием, что подтверждается известным уровнем техники [13–21].

ПРИМЕР 1

Исследование влияния температуры и длительности микробной ферментации сырья на содержание сырого протеина в кормовой добавке

В качестве исходного сырья используют соевый шрот с содержанием сырого протеина 46 %. Сырье увлажняют водопроводной водой до 50 % от полной влагоемкости, в количестве 300 г

помещают в колбы Эрленмейера объемом 2 литра и добавляют посевной материал (инокулюм) – суспензию дрожжевых грибов рода *Rhodotorula*, в частности, *Rhodotorula glutinis* ST-1. Посевной материал представляет собой суспензию дрожжевого гриба, выращенного в жидкой питательной среде при 26–28 °С в течение 18–24 часов до оптической плотности суспензии $0,6 \pm 0,1$, измеренной при длине волны 600 нм ($OP_{600} = 0,6 \pm 0,1$), что соответствует экспоненциальной фазе роста микроорганизма. Посевной материал (суспензию клеток микроорганизма) добавляют к подготовленному сырью в количестве 5 об %. Микробную ферментацию сырья осуществляют при 20, 24, 28, 30 и 32 °С в течение 12, 24, 36, 48, 60 и 72 часов, периодически перемешивая содержимое колб, например, каждые 6–8 часов в течение 3–5 мин. По окончании ферментации содержимое колб высушивают методом конвекции при температуре 50 °С до остаточной влажности не более 10 %.

В исходном соевом шроте и полученной кормовой добавке определяют содержание сырого протеина согласно ГОСТу 13496.4-93. Результаты приведены в таблице 1.

Как видно из данных таблицы 1, для микробной ферментации соевого шрота оптимальной является температура 24–30 °С при длительности процесса 36–48 часов. В этих условиях в ферментированном шроте обнаруживается максимальное (51,3–51,8 %) содержание сырого протеина, что на 5,3–5,8 % больше, чем в исходном сырье. Снижение или повышение температуры удлиняет процесс микробной ферментации до 60 ч, однако не влияет на концентрацию протеина в получаемом кормовом продукте.

ТАБЛИЦА 1
Влияние температуры и длительности микробной
ферментации соевого шрота на содержание сырого
протеина

Температура ферментации, °С	Содержание сырого протеина, %						
	Соевый шрот	Соевый шрот, подвергнутый микробной ферментации в течение, часов:					
		12	24	36	48	60	72

20	46,0	46,2	46,8	47,3	48,9	51,6	51,8
24	46,0	46,4	47,3	51,3	51,6	51,7	51,5
28	46,0	46,8	47,5	51,8	51,8	51,9	51,8
30	46,0	47,0	49,4	51,4	51,7	51,8	51,9
32	46,0	46,2	47,1	48,3	50,3	51,7	51,7

ПРИМЕР 2

В качестве сырья используют соевый шрот, рапсовый жмых, смесь соевого и подсолнечного шрота, смесь соевого шрота и рапсового жмыха в различных массовых соотношениях. Сырье увлажняют водопроводной водой до 50 % от полной влагоемкости и в количестве 400 г помещают в колбы Эрленмейера объемом 2 литра. В качестве посевного материала используют суспензию ($ОП_{600} = 0,6 \pm 0,1$) дрожжевых грибов рода *Naumovozyma*, в частности, *Naumovozyma castellii* ST-2 1 в количестве 1, 2, 3, 5, 8 или 10 об. %. Микробную ферментацию осуществляют при температуре 24 °С в течение 48 часов при периодическом перемешивании, например, (каждые 4–5 часов в течение 2–3 мин). По окончании процесса микробной ферментации содержимое колб высушивают методом конвекции при температуре 55 °С до остаточной влажности не более 10 % и определяют содержание сырого протеина. Полученные результаты представлены в таблице 2.

ТАБЛИЦА 2

Влияние количества посевного материала на содержание сырого протеина в ферментированном сырье

Ферментируемое сырье	Содержание сырого протеина в исходном сырье, %	Содержание сырого протеина (%) в сырье, ферментированном с использованием различного количества посевного материала, %:					
		1	2	3	5	8	10
1	2	3	4	5	6	7	8

Соевый шрот	46,0	49,5	51,0	52,1	52,2	52,3	52,2
Соевый шрот + подсолнечный шрот (1 : 1 по массе)	41,6	43,4	45,3	45,8	46,0	46,2	46,1
Соевый шрот + подсолнечный шрот (2 : 1 по массе)	43,0	45,0	46,3	48,2	48,5	48,8	48,8

Продолжение таблицы 2

1	2	3	4	5	6	7	8
Соевый шрот + подсолнечный шрот (1 : 2 по массе)	40,1	43,7	44,0	44,2	44,4	44,5	44,5
Соевый шрот + рапсовый жмых (1 : 1)	37,4	40,2	42,0	42,0	42,2	42,3	42,4
Соевый шрот + рапсовый жмых (2 : 1 по массе)	40,2	42,8	45,5	45,7	46,0	46,1	46,1
Соевый шрот + рапсовый жмых (1 : 2 по массе)	34,4	36,9	37,7	38,5	38,7	38,8	38,8

Согласно полученным данным, содержание сырого протеина в кормовой добавке достигает максимальной величины при

использовании суспензии микробной культуры в количестве 3–10 об. %. При этом результат не зависит от состава исходного сырья и количественного соотношения входящих в него компонентов: микробная ферментация приводит к повышению концентрации сырого протеина в получаемой кормовой добавке на 4,1–6,2 %.

ПРИМЕР 3

В колбы Эрленмейера объемом 2 литра помещают по 400 г предварительно простерилизованного (0,75 ати, 30 мин) и охлажденного до комнатной температуры соевого шрота (содержание сырого протеина 46 %) влажностью 40, 50, 60, 70, 80, 85, 90, 95 %. Затем в каждую из колб добавляют суспензию ($ОП_{600} = 0,6 \pm 0,1$) бактерий рода *Paenibacillus*, в частности, *Paenibacillus nicotianae* ST-4 в количестве 3 об. % и ведут ферментацию при температуре 28 °С в течение 8, 16, 24, 32, 40, 48, 60 или 72 часов. В процессе ферментации соевый шрот влажностью 40, 50, 60, 70 % перемешивают каждые 6–8 часов в течение 3–5 мин; шрот влажностью 80, 85, 90, 95 % перемешивают постоянно, например, используя качалку со скоростью вращения платформы 180 ± 20 оборотов в минуту. По окончании процесса микробной ферментации содержимое колб высушивают в сушильном шкафу с принудительной вентиляцией при температуре 55 °С до остаточной влажности не более 10 % и определяют концентрацию сырого протеина. Результаты приведены в таблице 3.

Согласно полученным данным, для достижения в кормовой добавке максимального содержания сырого протеина (52,2–52,9 %) достаточно 36–48 часов микробной ферментации сырья влажностью 50–70 % и 16–36 часов – влажностью 90–95 %. В первом случае издержки, связанные с более длительным периодом микробной ферментации шрота меньшей влажности, компенсируются издержками на непрерывное перемешивание и сушку продукта большей влажности при сопоставимом содержании протеина в конечном продукте. Поэтому целесообразность выбора сырья той или иной влажности диктуется техническими возможностями производителя кормовой добавки.

ТАБЛИЦА 3

Содержание сырого протеина в кормовой добавке,
полученной микробной ферментацией соевого шрота
различной влажности

Длительность микробной ферментации, час	Содержание сырого протеина (%) в кормовой добавке на основе ферментированного соевого шрота различной влажности, %:							
	40	50	60	70	80	85	90	95
8	46,0	46,3	46,6	46,8	47,3	48,0	48,2	48,3
16	46,2	47,5	47,6	48,1	49,9	51,2	52,6	52,8
24	46,3	49,0	49,3	49,8	51,4	51,4	52,7	52,9
36	46,5	52,2	52,4	52,2	51,5	51,5	52,5	52,7
48	46,6	52,4	52,6	52,3	51,4	51,6	52,6	52,8
60	46,8	52,5	52,7	52,4	51,5	51,8	52,8	52,9
72	46,9	52,6	52,8	52,6	51,7	51,9	52,9	52,8

ПРИМЕР 4

Микробную ферментацию шротов (жмыхов) или их смесей с использованием микроорганизмов различной таксономической принадлежности осуществляют в колбах Эрленмейера объемом 2 литра в следующих условиях:

- количество шрота (жмыха) влажностью 50 % – 350 г;
- суспензия микроорганизма ($ОП_{600} = 0,6 \pm 0,1$) – 5 об. %;
- длительность ферментации – 48 часов;
- температура ферментации – 28 °С;
- периодическое перемешивание – каждые 6–8 часов в течение

3–5 минут;

- сушка – при температуре 50–55 °С.

Полученные результаты приведены в таблице 4.

Как видно, микробная ферментация соевого шрота, а также его смесей с рапсовым жмыхом или рапсовым жмыхом и подсолнечным шротом приводит к повышению содержания в кормовой добавке сырого

протеина в пределах от 4,5 до 6,6 %, в зависимости от используемой микробной культуры. Наиболее труднодоступными субстратами для роста большинства исследованных культур и модификации являются подсолнечный шрот и рапсовый жмых: концентрация сырого протеина в кормовой добавке на их основе повышена по сравнению с исходным сырьем на 3,0–3,6 % и 3,1–3,8 % соответственно.

ТАБЛИЦА 4

Содержание сырого протеина в кормовых добавках на основе шротов (жмыхов), ферментированных с использованием микроорганизмов различной таксономической принадлежности

Микроорганизм для ферментации	Содержание сырого протеина, %:				
	соевый шрот	подсолнечный шрот	рапсовый жмых	соевый шрот + рапсовый жмых (1 : 1 по массе)	соевый шрот + рапсовый жмых + подсолнечный шрот (1 : 1 : 1 по массе)
<i>Rhodotorula glutinis</i> ST-1	51,6	40,4	32,3	43,1	42,2
<i>Naumovozyma castellii</i> ST-2	52,2	40,3	32,0	43,0	41,9
<i>Rhodotorula glutinis</i> ST-3	51,1	40,5	32,4	42,5	41,8
<i>Paenibacillus nicotianae</i> ST-4	52,6	40,6	32,5	42,3	42,0
<i>Paenibacillus</i> sp.	52,4	40,4	32,4	43,4	42,3

<i>Rhodotorula</i> sp.	51,8	40,3	32,0	43,4	42,1
<i>Rhodospiridium</i> sp.	51,2	40,2	31,9	42,2	41,9
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	52,3	40,8	31,8	43,1	42,0
Исходное сырье (без ферментации)	46,0	37,2	28,7	37,4	37,3

ПРИМЕР 5

Осуществляют микробно-энзиматическую ферментацию, когда одновременно с суспензией микроорганизмов к подготовленному сырью добавляют раствор ферментов, катализирующих разрушение растительных полимеров. Для этого используют одну или более микробных культур и раствор одного или более ферментов, выбранных из группы, включающей протеазы, пептидазы, амилазы, альфа-галактозидазы, маннаназы, пектиназы, бета-глюканазы, ксиланазы, эндоглюканазы (целлюлазы), фитазы, липазы, или раствор комплексного ферментного препарата.

Микробно-энзиматическую ферментацию подсолнечного шрота с содержанием сырого протеина 37,2 %, взятого в качестве трудногидролизуемого сырья, проводят в колбах Эрленмейера объемом 2 литра на качалке с использованием суспензии клеток штамма *Naumovozyma castellii* ST-2 и растворов одного или более коммерческих ферментных препаратов в следующих условиях:

- количество подсолнечного шрота влажностью 90 % – 1 000 г;
- суспензия штамма *Naumovozyma castellii* ST-2 – 5 об. %;
- раствор одного или более ферментов – из расчета 0,01; 0,05; 0,25; 0,5 и 1,0 % ферментов к массе сухого вещества сырья:
- фитаза (Phytaflow FG, Novozymes, Дания);
- альфа-амилаза (Amylex 6T, Danisco US Inc., США) + протеаза (Novozym 25008, Novozymes, Дания) (1 : 1 по массе);
- альфа-амилаза + целлюлаза + ксиланаза + бета-глюканаза (Viscoferm, Novozymes, Дания);
- фитаза + целлюлаза + ксиланаза + бета-глюканаза (Ровабио Макс Эдванс Р, Adisseo France S.A.S., Франция);

- протеаза + пектиназа + альфа-амилаза + альфа-галактозидаза + целлюлаза + ксиланаз + маннаназа + бета-глюканаза + фитаза (FRA Octazyme P, Framelco, Нидерланды);
- длительность ферментации – 30 ч;
- температура ферментации – 30 °С;
- перемешивание – постоянное (180±20 оборотов платформы качалки в минуту);
- сушка – распылительная в условиях, обеспечивающих температуру готового продукта на выходе не выше 60 °С.

Полученные результаты приведены в таблице 5.

ТАБЛИЦА 5

Влияние концентрации ферментных препаратов на содержание сырого протеина в кормовой добавке, полученной микробно-энзиматической ферментацией подсолнечного шрота

Количество ферментного препарата, % к массе сухого вещества сырья	Содержание сырого протеина (%) в кормовой добавке на основе подсолнечного шрота, ферментированного <i>Naumovozyma castellii</i> ST-2 и ферментами:				
	фитаза	альфа-амилаза + протеаза	альфа-амилаза + целлюлаза + ксиланаз + бета-глюканаза	фитаза + целлюлаза + ксиланаз + бета-глюканаза	протеаза + пектиназа + альфа-амилаза + альфа-галактозидаза + целлюлаза + ксиланаз + маннаназа + бета-глюканаза + фитаза
0 (исходное сырье)	37,2				
0 (микробная ферментация)	39,2				

)					
0,01	39,5	39,8	40,2	40,3	41,0
0,05	41,2	41,3	41,6	41,7	42,0
0,25	41,5	41,7	42,0	42,2	42,3
0,50	41,7	41,9	42,2	42,5	42,6
1,00	42,0	42,2	42,4	42,7	42,9

Как видно, при микробно-энзиматической ферментации трудногидролизуемого подсолнечного шрота оптимальное количество используемых ферментных препаратов составляет от 0,05 до 0,5 % к массе сухого вещества сырья, в зависимости от состава входящих в них ферментов. Микробно-энзиматическое воздействие на подсолнечный шрот приводит при оптимальной концентрации ферментов к повышению содержания в получаемой кормовой добавке протеина до 41,2–42,6 %, что на 4,0–5,4 % больше по сравнению с исходным сырьем и на 2,0–3,4 % больше по сравнению с микробной ферментацией.

ПРИМЕР 6

Микробно-энзиматическую ферментацию предварительно подготовленного (экструдирование, измельчение и/или стерилизация) растительного сырья проводят в колбах Эрленмейера объемом 2 литра на качалке в следующих условиях:

- количество шрота (жмыха) или их смеси влажностью 95 % – 800 г;
- суспензия клеток *Paenibacillus nicotianae* ST-4 (ОП₆₀₀ = 0,6±0,1) – 3 об. %;
- раствор комплексного ферментного препарата FRA Octazyme P (Framelco, Нидерланды) – из расчета 0,1 % препарата к массе сухого вещества сырья:
- длительность ферментации – 20 ч;
- температура ферментации – 30 °С;
- перемешивание – постоянное;
- сушка – распылительная в условиях, обеспечивающих температуру готового продукта на выходе не выше 60 °С.

Полученные результаты приведены в таблице 6.

ТАБЛИЦА 6
Содержание протеина в кормовой добавке,
полученной микробно-энзиматической ферментацией
предварительно обработанного сырья

Растительное сырье	Сырой протеин исходного сырья, %	Сырой протеин в кормовой добавке на основе ферментированного сырья, %:				
		без предварительной подготовки	предварительно измельченного	простерилизованного (0,75 ати, 30 мин)	измельченного и простерилизованного (0,75 ати, 30 мин)	экструдированного (90 °С, 5 сек)
1	2	3	4	5	6	7
Соевый шрот	46,0	52,5	52,8	52,7	52,9	52,8
Рапсовый жмых	28,7	32,6	32,5	32,7	32,8	32,6
Подсолнечный шрот	37,2	40,5	40,6	40,8	40,7	40,9
Соевый шрот + рапсовый жмых + подсолнечный шрот (1 : 1 : 1 по массе)	37,3	42,2	42,3	42,3	42,4	42,5

Согласно полученным результатам, предварительная термомеханическая обработка исходного сырья не приводит к достоверному увеличению содержания сырого протеина (таблица 6). Титр живых (активных) клеток бактерий *Paenibacillus nicotianae* ST-4 в кормовой добавке варьируется в пределах $3,5 \times 10^7$ – $8,0 \times 10^7$ КОЕ/г.

Необходимость термической обработки может возникнуть при чрезмерной контаминации исходного растительного сырья

посторонней микрофлорой, механической обработки – при наличии в нем большого количества крупных трудногидратируемых комков.

ПРИМЕР 7

Обобщенные в таблице 7 экспериментальные данные иллюстрируют эффективность реализации заявляемого способа получения кормовой добавки из отходов переработки семян масличных культур по варианту 1 в различных условиях ферментации.

Для этого сырье увлажняют до 50–70 % от полной влагоемкости, в количестве 300 г помещают в колбы Эрленмейера объемом 2 литра и подвергают микробной или микробно-энзиматической ферментации при температуре 24–30 °С и перемешивании до накопления в ферментируемом продукте максимального количества протеина, примерно 36–48 часов.

При микробной ферментации сырья используют суспензию одного или более микроорганизмов, выбранных из группы, включающей представителей родов *Rhodotorula*, *Rhodospiridium*, *Saccharomyces*, *Naumovozyma*, *Paenibacillus*, при микробно-энзиматической – микроорганизмы указанных выше групп и раствор одного или более ферментов, выбранных из группы, включающей протеазы, пептидазы, амилазы, альфа-галактозидазы, маннаназы, пектиназы, бета-глюканазы, ксиланазы, эндоглюканазы (целлюлазы), фитазы, липазы, или раствор комплексного ферментного препарата. Полученную кормовую добавку высушивают до влажности не более 10 %, определяют содержание сырого протеина.

ТАБЛИЦА 7

Содержание сырого протеина в образцах кормовой добавки, полученной согласно заявляемому способу по варианту 1

Условия ферментации сырья	Содержание протеина (%) в кормовой добавке, полученной ферментацией:			
	соевого шрота	рапсового жмыха	подсолнечного шрота	их смеси (1 : 1 : 1 по массе)
Исходное сырье (без ферментации)	46,0	28,7	37,2	37,3

Суспензия <i>Rhodotorula glutinis</i> ST-1 (3 об. %), влажность сырья 60 %, 24 °С, 40 ч	51,4	32,3	40,5	41,8
Суспензия <i>Naumovozyma castellii</i> ST-2 (10 об. %), влажность сырья 50 %, 20 °С, 48 ч	52,3	32,4	40,3	42,5
Суспензия смеси (1 : 1 : 1 по объему) <i>Rhodotorula glutinis</i> ST-3, <i>Paenibacillus nicotianae</i> ST-4 и <i>Rhodospiridium</i> sp. (6 об. %), влажность сырья 55 %, 28 °С, 40 ч	52,9	32,8	41,2	42,4
Суспензия <i>Saccharomyces cerevisiae</i> (3 об. %) и раствор протеазы (Olexa HS FG, Novozymes, Дания; из расчета 0,25 % фермента к массе сухого вещества сырья), влажность сырья 55 %, 30 °С,	53,1	33,5	41,5	41,7

36 ч				
Суспензия <i>Paenibacillus</i> <i>nicotianae</i> ST-4 (5 об. %) и раствор целлюлазы, ксилогалактаразы и бета- глюканазы (Viscozyme Wheat HT FG, Novozymes, Дания; из расчета 0,15 % препарата к массе сухого вещества сырья), влажность сырья 65 %, 28 °C, 36 ч	53,8	33,8	42,0	43,2
Суспензия смеси (1 : 1 по объему) штаммов <i>Paenibacillus</i> sp., <i>Rhodotorula</i> sp. (6 об. %) и раствора протеазы, пектиназы, амилазы, альфа- галактозидазы, целлюлазы, ксилогалактаразы, маннаназы, бета- глюканазы, фитазы в составе комплексного ферментного препарата (FRA Octazyme P,	53,7	34,0	42,2	43,6

Framelco, Нидерланды; из расчета 0,10 % препарата к массе сухого вещества сырья), влажность сырья 50 %, 28 °С, 36 ч				
--	--	--	--	--

Как видно, в испытанных условиях ферментации по варианту 1 содержание сырого протеина в кормовой добавке превышает его содержание в исходном сырье: в среднем увеличение составляет для соевого шрота 6,9 %, для рапсового жмыха – 4,4 %, подсолнечного шрота – 4,1 %, для их смеси (1 : 1 : 1 по массе) – 5,2 %.

ПРИМЕР 8

Экспериментальные данные, обобщенные в таблице 8, иллюстрируют эффективность реализации заявляемого способа получения кормовой добавки из отходов переработки семян масличных культур по варианту 2 в различных условиях ферментации.

Сырье увлажняют до 90–95 % от полной влагоемкости, суммарным количеством 1 000 г помещают в колбы Эрленмейера объемом 2 литра на микробиологическую качалку и при постоянном перемешивании подвергают микробной или микробно-энзиматической ферментации при температуре 24–30 °С до накопления в ферментируемом продукте максимального количества протеина (16–36 часов). Остальные условия ферментации аналогичны приведенным в примере 7. Сушку ферментированного сырья проводят на распылительной сушилке в условиях, обеспечивающих температуру готового продукта на выходе не выше 60 °С.

Анализ содержания сырого протеина, незаменимых аминокислот, антипитательных факторов, титра микроорганизмов проводили общепринятыми методами (ГОСТ 10444.12, ГОСТ 10444.15, ГОСТ 13496.4, ГОСТ 13979.9, ГОСТ 26657, ГОСТ 31640, ГОСТ 31675, ГОСТ 32040, ГОСТ 33427 и др.).

Результаты обобщены в таблице 8.

ТАБЛИЦА 8

Содержание протеина в образцах кормовой добавки,
полученной согласно заявляемому способу по
варианту 2

Условия ферментации сырья	Содержание протеина (%) в кормовой добавке, полученной ферментацией:			
	соевого шрота	рапсового жмыха	подсолнечн ого шрота	их смеси (1 : 1 : 1 по массе)
1	2	3	4	5
Исходное сырье (без ферментации)	46,0	28,7	37,2	37,3
Суспензия <i>Rhodotorula glutinis</i> ST-3 (6 об. %), влажность сырья 95 %, 20 °С, 36 ч	51,2	32,3	40,5	41,3
Суспензия штамма <i>Naumovozyma castellii</i> ST-2 (8 об. %), влажность сырья 90 %, 28 °С, 36 ч	52,0	32,8	40,3	42,5
Суспензия смеси <i>Saccharomyces cerevisiae</i> (3 об. %) и <i>Paenibacillus</i> sp. (1 об. %), 30 °С, 20 ч	52,3	32,6	40,8	42,6
Суспензия <i>Rhodotorula</i> sp. (2 об. %) и раствор фитазы	52,5	32,5	41,9	42,9

(Creazyme Phytase 5000, Inner Mongolian CRAVB Biotechnology Co., Ltd, Монголия; из расчета 0,2 % препарата к массе сухого вещества сырья), влажность сырья 90 %, 24 °C, 30 ч				
Суспензия штамма <i>Paenibacillus nicotianae</i> ST-4 (2 об. %) и раствор альфа-амилазы и глюкоамилазы (Saczyme Yield, Novozymes, Дания; из расчета 0,5 % препарата к массе сухого вещества сырья), влажность сырья 90 %, 24 °C, 16 ч	52,7	33,1	41,1	42,9

1	2	3	4	5
Суспензия штама <i>Rhodospiridium</i> sp. (5 об. %) и раствор амилазы, ксиланазы, бета-глюканазы (TALZYME XL 75, Sanson	53,2	33,2	41,6	43,2

Industry Group CO. LTD, Китай; из расчета 0,05 % препарата к массе сухого вещества сырья), фитазы (Phytaflow FG Novozymes, Дания; из расчета 0,05 % к массе сухого вещества сырья препарата), влажность сырья 95 %, 24 °С, 24 ч				
Суспензия смеси <i>Rhodotorula glutinis</i> ST-1 (2,5 об. %), <i>Naumovozyma castellii</i> ST-2 (5,0 об. %) и раствора протеазы, пектиназы, амилазы, целлюлазы, ксиланазы, бета-глюканызы, фитазы в составе комплексного ферментного препарата («Энзим матрикс», ООО «НПЦ Агросистема», РФ; из расчета 0,05 % препарата к массе	53,6	33,5	41,9	43,4

сухого вещества сырья), влажность сырья 95 %, 30 °С, 16 ч				
--	--	--	--	--

Таким образом, при всех условиях ферментации по варианту 2 содержание сырого протеина в кормовой добавке превышает его содержание в исходном сырье. В среднем повышение составляет для соевого шрота 6,5 %, для рапсового жмыха – 4,2 %, подсолнечного шрота – 4,0 %, для их смеси (1 : 1 : 1 по массе) – 5,4 %.

Следует особо подчеркнуть, что в результате осуществления заявляемого способа ферментации как по варианту 1 (таблица 7), так и по варианту 2 (таблица 8) получают кормовую добавку со стабильным и близким по величине содержанием сырого протеина. Его концентрация в кормовой добавке, полученной с использованием шрота (жмыха) сои увеличивается в среднем на 6,5–6,9 %, рапса – на 4,2–4,4 %, подсолнечника – на 4,0–4,1 %, их смеси – на 5,2–5,4 % по сравнению с исходным сырьем.

При этом концентрация антипитательных веществ в кормовой добавке, получаемой согласно заявляемому способу по варианту 1 и варианту 2, снижается по сравнению с их количеством в исходном сырье. Содержание связанного с фитатом фосфора уменьшено на 24,5–27,8 %, сырой клетчатки – на 38,4–40,1 %, олигосахаридов – на 92,8–95,8 %, глицинина, бета-конглицинина, лектинов – 95,6–96,3 %, ингибиторов трипсина – на 95,2–100 %, активности уреазы – на 98,3–100 %. Титр живых (активных) клеток микробных культур, используемых для ферментации сырья, в кормовой добавке варьируется в пределах от $5,4 \times 10^7$ до $2,5 \times 10^9$ КОЕ/г.

ПРИМЕР 9

Для детальной характеристики состава, питательной ценности, испытаний эффективности нарабатывают 2 образца кормовой добавки согласно варианту 1 и варианту 2 заявляемого способа.

Кормовую добавку по варианту 1 получают микробной ферментацией соевого шрота в закрытом, оснащённом перемешивающим устройством аппарате периодического действия объемом 30 литров в следующих условиях:

- количество шрота (жмыха) влажностью 50 % – 10,0 кг;
- суспензия клеток *Rhodotorula glutinis* ST-1 в экспоненциальной фазе роста – 5 об. %,
 - длительность ферментации – 48 часов;
 - температура ферментации – 26 ± 2 °С;
 - периодическое перемешивание;
 - сушка – в сушилке ленточного типа (модель СЛМ-4) при 55 °С.

Кормовую добавку по варианту 2 получают микробно-энзиматической ферментацией предварительно измельченного соевого шрота в ферментере периодического действия объемом 100 л, оснащенный перемешивающим устройством (мешалкой) и водной рубашкой, в следующих условиях:

- предварительно простерилизованный (0,75 ати, 30 мин) соевый шрот влажностью 90 % – 50,0 кг;
- суспензия клеток *Naumovozyma castellii* ST-2 ($OP_{600} = 0,6 \pm 0,1$) – 3 об. %,
 - раствор комплексного ферментного препарата «Энзим матрикс» (ООО «НПЦ Агросистема», РФ), содержащего протеазу, пектиназу, альфа-амилазу, целлюлазу, ксиланазу, бета-глюканазу, фитазу, липазу, маннаназу, – из расчета 0,05 % препарата к массе сухого вещества сырья;
 - длительность ферментации – 30 часов;
 - температура ферментации – 28 °С;
 - постоянное перемешивание;
 - сушка – распылительная в условиях, обеспечивающих температуру готового продукта на выходе не выше 60 °С.

Анализ биохимического состава, кормовой ценности и усвояемости исходного сырья и образцов кормовой добавки проведен в независимых аккредитованных лабораториях СЗАО «Серволюкс», РУП «Слуцкий центр стандартизации, метрологии и сертификации», РУП «Центральная научно-исследовательская лаборатория» (Беларусь). Анализ проводили общепринятыми на территории Евразийского экономического союза методами – ГОСТ 10444.12, ГОСТ 10444.15, ГОСТу 13496.4, ГОСТу 13979.9, ГОСТу 26657, ГОСТу 31640, ГОСТ 31675, ГОСТу 33427, ГОСТу Р 51038 и др.

Полученные результаты обобщены в таблице 9 и таблице 10.

ТАБЛИЦА 9

Сравнительная характеристика соевого шрота и образцов кормовой добавки, полученной согласно заявляемому способу по варианту 1 и варианту 2

Показатель	Единица измерения	Кормовая добавка по варианту 1	Кормовая добавка по варианту 2	Соевый шрот
Обменная энергия	ккал/кг	2327	2395	2256
Сухое вещество	г/100 г	90,82	90,49	90,60
Фосфор усвояемый	г/100 г	0,39	0,38	0,26
Фосфор фитиновый	г/100 г	0,29	0,31	0,41
Сырая клетчатка	г/100 г	3,50	3,23	5,60
Сырой протеин	г/100 г	51,45	52,15	46,00
Лизин	г/100 г	3,21	3,15	2,97
Метионин	г/100 г	0,74	0,72	0,66
Цистин	г/100 г	0,72	0,76	0,69
Треонин	г/100 г	2,10	2,11	1,84
Триптофан	г/100 г	0,66	0,69	0,65
Валин	г/100 г	2,55	2,59	2,24
Изолейцин	г/100 г	2,51	2,50	2,14
Лейцин	г/100 г	3,92	3,96	3,63
Фенилаланин	г/100 г	2,59	2,61	2,50
Гистидин	г/100 г	1,32	1,33	1,36
Аргинин	г/100 г	3,43	3,47	3,36
Сумма аминокислот	г/100 г	23,75	23,89	22,04
Титр микроорганизмов:	КОЕ/г	$3,5 \times 10^8$ –	– $8,5 \times 10^8$	$8,0 \times 10^4$ 0

ТАБЛИЦА 10

Сравнительная характеристика усвояемости аминокислот соевого шрота и образцов кормовой добавки, полученной согласно заявляемому способу по варианту 1 и варианту 2

Аминокислота	Усвояемость аминокислот (%):
--------------	------------------------------

	Кормовая добавка по варианту 1		Кормовая добавка по варианту 2		соевый шрот	
	птица	свиньи	птица	свиньи	птица	свиньи
Лизин	89,8	90,0	88,9	92	86,9	86,9
Метионин	87,3	86,0	88,7	89	86,4	89,4
Цистин	74,3	91,0	76,1	93	82,6	81,2
Треонин	84,5	86,0	85,0	89	83,7	70,1
Триптофан	88,3	89,0	86,7	91	83,1	88,0
Валин	84,1	88,0	85,2	90	87,9	87,1
Изолейцин	89,7	90,0	89,4	91	88,8	88,3
Лейцин	90,7	89,0	90,5	91	88,9	87,1
Фенилаланин	91,8	90,0	91,3	92	89,2	89,2
Гистидин	86,9	91,0	87,0	92	86,9	89,7
Аргинин	93,5	94,0	93,6	95	82,1	89,3

Как видно, при масштабировании процессов микробной или микробно-энзиматической ферментации соевого шрота концентрация сырого протеина в образцах кормовой добавки достигает 51,45–52,15 г/100 г; незаменимых аминокислот – в сумме 23,75–23,85 г/100 г; усвояемого фосфора – 0,38–0,39 г/100 г, что соответственно на 11,8–13,4; 7,8–8,4 и 46,2–50,0 % выше их содержания в исходном сырье (таблица 9). При этом усвояемость животными всех незаменимых аминокислот, за исключением цистина и валина у птицы, метионина у свиней, является более высокой, чем усвояемость соответствующих аминокислот исходного соевого шрота (таблица 10).

Кроме того, в ферментированных продуктах не обнаружено ингибиторов трипсина и активности уреазы; содержание глицинина, бета-конглицинина и лектинов снижено на 95,5–95,9 %, олигосахаридов – на 92,9–93,5 %, сырой клетчатки – на 37,5–42,3 %, фитинового фосфора – на 24,4–29,3 % по сравнению с исходным соевым шротом.

Титр пробиотического микроорганизма *Naumovozyma castellii* ST-2, используемого в процессе ферментации соевого шрота, составил $3,5 \times 10^7 - 1,5 \times 10^8$ КОЕ/г кормовой добавки.

ПРИМЕР 10

Эффективность использования образцов кормовой добавки, полученной заявленным способом, исследована на ценных видах рыб, которые по сравнению с другими животными наиболее требовательны к качеству и количеству потребляемого протеина. Испытания проводили в Республиканском унитарном предприятии «Институт рыбного хозяйства» в лабораторных аквариумах, в каждом из которых содержали по пять сеголетков радужной форели средней массой 24–32 г или по пять двухлеток осетра ленского средней массой 220–440 г, отдельно в контрольных и опытных группах.

Условия содержания радужной форели: аквариумы объемом 90 литров; температура воды – 17,3 °С, количество растворенного в воде кислорода – 7,5 мг/л, рН 6,8. Рыба контрольной группы получала основной рацион («Комбикорм экструдированный для сеголетков лососевых рыб», ТУ ВУ 100035627.015-2013), а для рыбы опытных групп соевый шрот в комбикорме был частично (5, 10, 15 %) и полностью (100 %) заменен кормовой добавкой, полученной согласно заявляемому способу по варианту 1.

Условия содержания ленского осетра: аквариумы объемом 250 литров; температура воды – 19 °С, содержание растворенного в воде кислорода – 7,5 мг/л, рН 6,8. Рыба контрольной группы получала основной рацион («Комбикорм экструдированный для осетровых рыб», ТУ ВУ 100035627.016-2015), а для рыбы опытных групп соевый шрот в комбикорме частично (на 5, 10, 15 %) и полностью (на 100 %) заменен кормовой добавкой, полученной согласно заявляемому способу по варианту 2.

По окончании эксперимента проанализирован относительный прирост массы рыбы и величина кормового коэффициента, отражающего количество корма, затраченного на получение 1 кг прироста. Исследованы также биохимические показатели мяса рыбы, влияющие на его питательную ценность. Результаты исследований, выполненных с использованием общепринятых методов, приведены в таблицах 11–13.

Как видно, замена 10 % комбикорма кормовой добавкой давала наибольший абсолютный прирост массы радужной форели (62,82 %), что в 4,2 раза превышало контрольный показатель (таблица 11).

ТАБЛИЦА 11

Показатели эффективности использования кормовой добавки в рационе радужной форели

Показатель эффективности использования кормовой добавки	Доля замены соевого шрота в комбикорме кормовой добавкой, %:				
	0 (контроль)	5	10	15	100
Абсолютный прирост массы, г	3,60±0,40	12,20±1,16	15,00±2,74	6,40±2,11	5,40±2,48
Кормовой коэффициент, ед.	4,1	1,6	0,9	1,9	2,6

Менее значительное повышение приростов наблюдалось у ленского осетра: при оптимальной дозе введения шрота (15 %) этот показатель составил 9,57 %, превысив контрольный уровень в 1,23 раза (таблица 12).

ТАБЛИЦА 12

Показатели эффективности использования кормовой добавки в рационе ленского осетра

Показатель эффективности использования кормовой добавки	Доля замены соевого шрота в комбикорме кормовой добавкой, %:				
	0 (контроль)	5	10	15	100
Абсолютный прирост массы, г	15,67±3,71	32,67±0,88	32,67±1,86	19,00±3,76	31,50±4,79

Кормовой коэффициент, ед.	3,7	3,5	3,4	3,0	3,5
---------------------------	-----	-----	-----	-----	-----

Кроме того, отмечено более эффективное использование комбикорма рыбой при введении в его состав кормовой добавки во всех испытанных дозах. Максимальный эффект получен при замене 10 % основного рациона форели и 15% – осетра. Кормовой коэффициент в первом случае снижается с 4,1 ед. (контроль) до 0,9 ед., во втором – с 3,7 ед. до 3,0 ед., что согласуется с приведенными выше данными о приростах массы рыбы.

Отмечено также, что при введении в основной рацион кормовой добавки в оптимальной для радужной форели (10 %) и ленского осетра (15 %) дозе содержание протеина в их мышечной массе превышает контрольные показатели соответственно на 14,6 и 26,1 %, а жирность – на 5,4 и 32,9 %, соответственно (таблица 13).

ТАБЛИЦА 13

Влияние дозы замены соевого шрота в комбикорме кормовой добавкой на показатели мяса радужной форели и ленского осетра

Рыба	Доза кормовой добавки, %	Показатели качества мяса рыбы:			
		влага, %	сухое вещество, %	протеин, %	жир, %
Радужная форель	0 (контроль)	75,01±1,06	24,99±1,06	14,41±0,29	8,48±0,55
	5	74,59±1,02	25,41±1,02	16,33±0,97	7,41±0,37
	10	74,34±0,94	25,66±0,94	16,51±0,27	6,94±0,74
	15	75,57±0,18	24,43±0,18	15,73±1,17	6,43±1,31
	100	76,30±0,59	23,70±0,59	12,79±0,53	7,87±0,83
Ленский осетр	0 (контроль)	79,07±0,32	20,93±0,32	13,51±0,78	5,47±1,43

	5	78,14±0,20	21,86±0,20	12,71±0,31	7,71±0,35
	10	82,04±0,39	17,97±0,39	9,57±0,61	6,58±0,25
	15	73,72±0,37	26,29±0,37	17,04±0,96	7,27±0,28
	100	77,54±0,31	22,46±0,31	13,74±0,72	7,00±0,94

Сходный эффект получен при использовании заявляемой кормовой добавки в рационе животных, которые отличаются меньшей, чем ценные виды рыбы привередливостью к аминокислотному составу потребляемого белка.

Таким образом, реализация разработанного ресурсосберегающего, экологически безопасного способа получения кормовой добавки позволяет из отходов переработки семян масличных культур получить кормовой продукт повышенной питательной ценности и усвояемости, упростить и удешевить процесс, расширить ассортимент кормовых продуктов.

Применение полученной в соответствии с заявляемым способом кормовой добавки, дополнительно содержащей культуры активных (живых) микроорганизмов и их биологически активные метаболиты, способствует улучшению физического, биохимического и иммунного статуса животных, нормализации микрофлоры желудочно-кишечного тракта, улучшению пищеварения, уменьшению риска возникновения заболеваний, обусловленных нарушением функций пищеварительной системы и обмена веществ, что приводит к увеличению продуктивности животных, снижению расхода корма, повышению качества и рентабельности производства получаемых от них продуктов.

ИСТОЧНИКИ ИНФОРМАЦИИ

1. SI 25728 (A) – 2020-05-29
2. CN 109744377 – 2019-05-14
3. RU 2038797 – 1995.07.09
4. RU 2134993 – 1999-08-27
5. RU 2480997 – 2013-05-10
6. CN 101371681 – 2009.02.25
7. US 2016135483 – 2016-05-19
8. RU 2631827 – 2017-09-26
9. EA 201492027 – 2015-02-27
10. WO 2006102907 – 2006-12-14
11. RU 2202224 – 2003-04-20
12. RU 2552084 – 2015-06-10 (прототип)
13. Naghmouchi K., Baah J., Cudennec B., Drider D. Required characteristics of *Paenibacillus polymyxa* JB-0501 as potential probiotic // Arch. Microbiol. – 2013. – Vol. 195, No. 8. – P. 537–543.
14. Лобанок А.Г., Сапунова Л.И., Шарейко Н.А., Долженкова Е.А. Дрожжи как основа биологически активных кормовых добавок про- и пребиотического действия // Весці НАН Беларусі. Сер. біял. навук. – 2014. – № 1. – С. 17–22.
15. Midhun S.J., Neethu S., Vysakh A., Arun D., Radhakrishnan E.K., Jyothis M. Antibacterial activity and probiotic characterization of autochthonous *Paenibacillus polymyxa* isolated from *Anabas testudineus* (Bloch, 1792) // Microb. Pathog. – 2017. – Vol. 113. – P. 403–411.
16. Banik A., Halder S.K., Ghosh C., Mondal K.C. Fungal Probiotics: Opportunity, Challenge, and Prospects. In: Yadav A., Singh S., Mishra S., Gupta A. (eds). – Recent Advancement in White Biotechnology Through Fungi. Fungal Biology. – Springer, Cham., 2019.
17. Chen S.W., Liu C.H., Hu S.Y. Dietary administration of probiotic *Paenibacillus ehimensis* NPUST1 with bacteriocin-like activity improves growth performance and immunity against *Aeromonas hydrophila* and *Streptococcus iniae* in Nile tilapia

(*Oreochromis niloticus*) // *Fish Shellfish Immunol.* - 2019. - Vol. 84. - P. 695-703.

18. Latham E.A., Pinchak W.E., Trachsel J., Allen H.K., Callaway T.R., Nisbet D.J., Anderson R.C. *Paenibacillus* 79R4, a potential rumen probiotic to enhance nitrite detoxification and methane mitigation in nitrate-treated ruminants // *Sci. Total Environ.* - 2019. - Vol. 671. - P. 324-328.

19. Ekim B., Calik A., Ceylan A., Saçaklı P. Effects of *Paenibacillus xylanexedens* on growth performance, intestinal histomorphology, intestinal microflora, and immune response in broiler chickens challenged with *Escherichia coli* K88 // *Poult. Sci.* - 2020. - Vol. 99, No. 1. - P. 214-223.

20. Jagadeesan Y., Athinarayanan S., Ayub S.B.M., Balaiah A. Assessment of Synthesis Machinery of Two Antimicrobial Peptides from *Paenibacillus alvei* NP75 // *Probiotics Antimicrob. Proteins.* - 2020. - Vol. 12, No. 1. - P. 39-47.

21. Sena S., Mansell T.J. Yeasts as probiotics: mechanisms, outcomes, and future potential // *Fungal Gen. Biol.* - 2020. - Vol. 137. - 103333: doi:10.1016/j.fgb.2020.103333

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ получения кормовой добавки, в котором
 - 1) отходы переработки семян масличных культур увлажняют до 50–95 % от полной влагоемкости,
 - 2) добавляют суспензию по меньшей мере одного микроорганизма в экспоненциальной фазе роста, выбранного из группы, включающей представителей родов *Rhodotorula*, *Rhodospiridium*, *Saccharomyces*, *Naumovozyma* и *Paenibacillus*, в количестве 3–10 об. %,
 - 3) проводят ферментацию при температуре 24–30 °С и перемешивании в течение 16–48 часов,
 - 4) высушивают при температуре не более 60 °С до влажности не более 10 %.
2. Способ по п.1, в котором увлажнение отходов переработки семян масличных культур осуществляют до 50–70 % от полной влагоемкости, а ферментацию проводят в течение 36–48 часов.
3. Способ по п.1, в котором увлажнение отходов переработки семян масличных культур осуществляют до 90–95 % от полной влагоемкости, а ферментацию проводят в течение 16–36 часов.
4. Способ по любому из пп. 1–3, в котором в качестве отходов переработки семян масличных культур используют шрот и/или жмых, по меньшей мере, одного вида семян, выбранных из группы, включающей семена рапса, сои и подсолнечника.
5. Способ по любому из пп. 1–4, в котором отходы переработки семян масличных культур предварительно экструдируют и/или измельчают.
6. Способ по любому из пп. 1–5, в котором отходы переработки семян масличных культур при необходимости стерилизуют.
7. Способ по любому из пп. 1–6, в котором в качестве суспензии микроорганизмов используют суспензию, по меньшей мере, одного микроорганизма, выбранного из группы, включающей *Rhodotorula glutinis*, *Naumovozyma castellii*, *Paenibacillus nicotianae*, предпочтительно суспензию, по меньшей мере, одного микроорганизма, выбранного из группы, включающей штамм ST-1 дрожжевого гриба *Rhodotorula glutinis*, депонированный в Белорусской коллекции непатогенных микроорганизмов под номером Y-338 Д, штамм ST-2 дрожжевого гриба *Naumovozyma castellii*,

депонированный в Белорусской коллекции непатогенных микроорганизмов под номером Y-339 Д, штамм ST-3 дрожжевого гриба *Rhodotorula glutinis*, депонированный в Белорусской коллекции непатогенных микроорганизмов под номером Y-340 Д, бактериальный штамм ST-4 *Paenibacillus nicotianae*, депонированный в Белорусской коллекции непатогенных микроорганизмов под номером В-1461 Д.

8. Способ по любому из пп. 1-7, в котором одновременно с суспензией микроорганизмов дополнительно вводят раствор, содержащий ферменты в количестве 0,05-0,5 % к массе сухого вещества отходов переработки семян масличных культур, предпочтительно, по меньшей мере, один фермент, выбранный из группы, включающей протеазы, пептидазы, амилазы, альфа-галактозидазы, маннаназы, пектиназы, бета-глюканазы, ксиланазы, эндоглюканазы, целлюлазы, фитазы и липазы.

9. Кормовая добавка, полученная способом по любому из пп. 1-8.

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

Номер евразийской заявки:

202190733

А. КЛАССИФИКАЦИЯ ПРЕДМЕТА ИЗОБРЕТЕНИЯ:

A23K 10/12 (2016.01)

Согласно Международной патентной классификации (МПК)

Б. ОБЛАСТЬ ПОИСКА:

Просмотренная документация (система классификации и индексы МПК)

A23K 10/10, 10/12, 10/30

Электронная база данных, использовавшаяся при поиске (название базы и, если, возможно, используемые поисковые термины)
EAPATIS, ESPACENET, GOOGLE, ELIBRARY.RU, ЯНДЕКС

В. ДОКУМЕНТЫ, СЧИТАЮЩИЕСЯ РЕЛЕВАНТНЫМИ

Категория*	Ссылки на документы с указанием, где это возможно, релевантных частей	Относится к пункту №
Y	RU 2552084 C1 (ООО «ТЕКНОФИД») 2015-06-10 реферат, примеры 1-4, формула 1-3	1-6,8,9
A	-----	7
Y	САПУНОВА Л.И. и др. Кормовые добавки на основе дрожжевых грибов: получение и эффективность использования. БИОТЕХНОЛОГИЯ: ДОСТИЖЕНИЯ И ПЕРСПЕКТИВЫ РАЗВИТИЯ: СБОРНИК МАТЕРИАЛОВ IV МЕЖДУНАРОДНОЙ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКОЙ КОНФЕРЕНЦИИ, ПИНСК, 20-22 НОЯБРЯ 2019 г, 2019, с. 32-35. с.32, абзац 4 - с.34, абзац 5.	1-6,8,9
Y	САПУНОВА Л.И. и др. Выделение, характеристика и молекулярно-генетическая идентификация нового штамма бактерий <i>Paenibacillus species</i> . ДОКЛАДЫ НАЦИОНАЛЬНОЙ АКАДЕМИИ НАУК БЕЛАРУСИ, 2019, т.63, № 2, с.181-188 разделы «Аннотация», «Заключение»	1-6,8,9
Y	БАННИЦИНА Т.Е. и др. Дрожжи в современной биотехнологии. ВЕСТНИК МАХ. 2016, No 1, с.24-29 doi: 10.21047/1606-4313-2016-16-1-24-29 реферат, с.26, правая колонка, абзац 4 – с.27, левая колонка, абзац 3.	1-6,8,9
Y	ХА Т.З. и др. Эффективность культивирования бактерий <i>Paenibacillus</i> на ферментоллизатах клетчатки рисовой шелухи. ХИМИЯ РАСТИТЕЛЬНОГО СЫРЬЯ, 2020, №2, с.271-282 DOI: 10.14258/jcprtm.2020026687 реферат	1-6,8,9

☐ 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

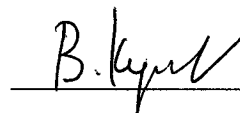
«L» - документ, приведенный в других целях

Дата проведения патентного поиска: **25/10/2021**

Уполномоченное лицо:

Заместитель начальника Управления экспертизы

Начальник отдела химии и медицины



А.В. Чебан