

(19)



Евразийское
патентное
ведомство

(21) 202292318 (13) A1

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2022.12.05(22) Дата подачи заявки
2021.02.10

(51) Int. Cl. *A23K 10/16* (2016.01)
C12N 1/20 (2006.01)
C12N 1/16 (2006.01)
A61K 35/741 (2014.01)
A61P 1/00 (2006.01)
A23K 10/30 (2016.01)
A23K 20/158 (2016.01)
A23K 20/142 (2016.01)
A23K 20/10 (2016.01)
C12R 1/00 (2006.01)

(54) СПОСОБЫ И КОМПОЗИЦИИ ДЛЯ УМЕНЬШЕНИЯ ВРЕДНЫХ КИШЕЧНЫХ ГАЗОВ У ДОМАШНЕГО СКОТА

(31) 62/972,973; 63/024,191; 63/038,985;
63/126,711(32) 2020.02.11; 2020.05.13; 2020.06.15;
2020.12.17

(33) US

(86) PCT/US2021/017399

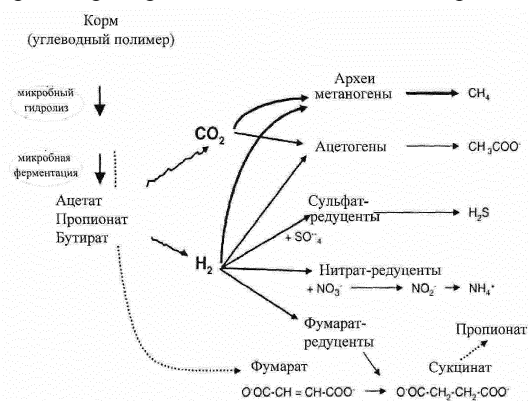
(87) WO 2021/163148 2021.08.19

(71) Заявитель:
ЛОКУС АЙПИ КОМПАНИ, ЛЛК
(US)

(72) Изобретатель:
Фармер Шон, Алибек Кен, Каратур
Картик Н., Хайдекорн Кит (US)

(74) Представитель:
Тагбергенова М.М., Тагбергенова А.Т.
(KZ)

(57) Изобретение предлагает композиции и способы для уменьшения выбросов в атмосферу вредных газов, образующихся в пищеварительных системах домашних животных и/или отходах. В предпочтительных вариантах осуществления композиция, содержащая один или несколько полезных микроорганизмов и/или один или несколько продуктов жизнедеятельности микроорганизмов, контактирует с пищеварительной системой и/или отходами домашних животных, чтобы, например, контролировать метаногенные бактерии в них.



A1

202292318

202292318

A1

СПОСОБЫ И КОМПОЗИЦИИ ДЛЯ УМЕНЬШЕНИЯ ВРЕДНЫХ КИШЕЧНЫХ ГАЗОВ У ДОМАШНИХ ЖИВОТНЫХ

ПЕРЕКРЕСТНЫЕ ССЫЛКИ НА РОДСТВЕННЫЕ ЗАЯВКИ

- 5 Эта заявка испрашивает приоритет предварительных заявок на патент США № 62/972,973, поданной 11 февраля 2020 г.;
- № 63/024,191, поданной 13 мая 2020 г.;
- № 63/038,985, поданной 15 июня 2020 г.; и
- № 63/126,711, поданной 17 декабря 2020 г.,
- 10 содержание каждой из которых полностью включено в настоящий документ посредством ссылки.

ПРЕДШЕСТВУЮЩИЙ УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ

- Газы, которые поглощают тепло в атмосфере, называются “парниковыми газами” или “ПГ” и включают углекислый газ, метан, закись азота и фторированные газы (отчет Агентства по охране окружающей среды США за 2016 год, пункт 6).
- 15

- Углекислый газ (CO_2) попадает в атмосферу при сжигании ископаемого топлива (угля, природного газа и нефти), твердых отходов, деревьев и изделий из древесины, а также в результате определенных химических реакций, например, при производстве
- 20 цемента. Углекислый газ удаляется из атмосферы, например, путем поглощения растениями как часть биологического углеродного цикла.

- Закись азота (N_2O) выделяется в процессе промышленного производства и при сжигании ископаемого топлива и твердых отходов. В сельском хозяйстве чрезмерное применение азотсодержащих удобрений и несовершенные способы обработки почвы
- 25 также могут привести к увеличению выбросов закиси азота и других азотсодержащих газов.

- Фторированные газы, включая, например, гидрофторуглероды, перфторуглероды, гексафторид серы и трифторид азота, являются синтетическими сильнодействующими парниковыми газами, которые выделяются в результате
- 30 различных технологических процессов.

- Метан (CH_4) выделяется при добыче и транспортировке угля, природного газа и нефти. Кроме того, другие сельскохозяйственные методы, а также разложение органических отходов в отстойниках и на свалках твердых бытовых отходов могут привести к выбросам метана. Примечательно, однако, что выбросы метана также
- 35 происходят при выращивании домашних животных, пищеварительная система многих животных содержит метаногенные микроорганизмы (Обзор парниковых газов за 2016 год).

- Исходя из недавних измерений, проведенных станциями мониторинга по всему миру, и измерения более старого воздуха из пузырьков воздуха, попавших в слои льда
- 40 Антарктиды и Гренландии, в мировом масштабе концентрации ПГ в атмосфере

значительно возросли за последние несколько сотен лет (Отчет Агентства по охране окружающей среды США за 2016 год, пункт 6, 15).

В особенности потому, что с начала промышленной революции в 1700-х годах жизнедеятельность человека способствовала увеличению количества ПГ в атмосфере, в результате сжигания ископаемого топлива, вырубки лесов и осуществления других видов деятельности. Многие выбросы ПГ в атмосферу остаются там в течение длительных периодов времени - от десятилетия до многих тысячелетий. Со временем эти газы удаляются из атмосферы в результате химических реакций или с помощью поглотителей выбросов, таких как океаны и растительность, которые абсорбируют ПГ из атмосферы.

Мировые лидеры пытались сдержать рост выбросов ПГ с помощью договоров и других межгосударственных соглашений. Одна из таких попыток заключается в использовании систем квотирования выбросов углерода. Углеродная квота - это общий термин, обозначающий продаваемый сертификат или разрешение, дающее право на выброс одной тонны углекислого газа или эквивалентного количества ПГ. В стандартной системе углеродных квот регулирующий орган устанавливает квоты на количество выбросов ПГ, которые может произвести оператор. Превышение этих квот требует от оператора приобретения дополнительных квот у других операторов, которые не использовали все свои углеродные квоты.

Одна из целей систем углеродного квотирования состоит в том, чтобы стимулировать компании инвестировать в более экологичные технологии, оборудование и практики, чтобы извлечь выгоду из торговли этими квотами. В соответствии с Киотским протоколом к Рамочной конвенции ООН по изменению климата (РКИКООН) большое число стран согласилось быть связанными на международном уровне политикой сокращения выбросов ПГ, в том числе посредством торговли квотами на выбросы. Хотя Соединенные Штаты не связаны Киотским протоколом и в США нет центральной национальной системы торговли квотами на выбросы, некоторые штаты, такие как Калифорния и группа северо-восточных штатов, начали внедрять такие схемы торговли.

Еще одна попытка сократить выбросы ПГ в атмосферу, в частности выбросы метана, связана с использованием кормовых добавок или биодобавок в животноводстве. Жвачные животные, такие как, например, крупный рогатый скот, овцы, буйволы, козы, олени и верблюды, уникальны из-за наличия у них четырех отделов желудка: ретикулума, рубца, omasума и сычуга. Рубец, в частности, представляет собой большой полый орган, в котором происходит микробиологическая ферментация проглоченных веществ, таких как волокнистый растительный материал. Этот орган может вместить 40-60 галлонов материала, при этом предполагаемая микробиологическая концентрация составляет 150 миллиардов микробов на чайную ложку содержимого рубца.

Рубец функционирует как сосуд для анаэробной ферментации определенных бактерий, которые производят газообразные побочные продукты ферментации, включая кислород, азот, H_2 и углекислый газ. См **ФИГ. 1**. Метаногенез - это естественный процесс, способствующий эффективности пищеварительной системы, снижающий парциальное давление H_2 и обеспечивающий нормальное функционирование микробных ферментов. Этот процесс регулируется метаногенами, наиболее распространенным из которых является *Methanobrevibacter*. Метаногены образуют биопленку на поверхностях, где образующие водород бактерии и простейшие активно производят H_2 , необходимый для восстановления углекислого газа до метана.

Например, крупный рогатый скот, выращиваемый для производства говядины и молока, а также для получения несъедобной продукции, такой как навоз и тяговая сила, является источником наибольшего количества выбросов от животноводства, что составляет около 65% выбросов животноводческого сектора. Одна корова может ежедневно отрыгивать от 130 до более чем 250 галлонов газа, образующегося в рубце в результате ферментации. Это важно для здоровья коровы, так как предотвращает вздутие живота; однако отрицательным результатом является выброс в атмосферу ПГ, таких как углекислый газ и метан.

У других животных, в том числе у нежвачных животных, также наблюдается образование парниковых газов в кишечнике. Например, свиньи, грызуны, обезьяны, лошади, мулы, ослы, носороги, бегемоты, медведи, домашняя птица и некоторые другие птицы также содержат метаногенные бактерии в своих пищеварительных системах. Некоторые животные с однокамерным желудком также выделяют N_2O и CO_2 .

Кроме ферментации в кишечнике, навоз домашних животных также может быть источником выбросов ПГ. Навоз содержит два компонента, которые могут привести к выбросам ПГ при хранении и переработке: органическое вещество, которое может быть преобразовано в выбросы метана, и азот, который косвенно приводит к выделению закиси азота. Метан выделяется, когда метаногенные бактерии разлагают органический материал в навозе, который хранится в отстойниках, хранилищах жидких отходов или резервуарах-хранилищах. Кроме того, азот в форме аммиака (NH_3) выделяется из навоза и мочи во время хранения и переработки. Позже аммиак может быть преобразован в закись азота. (Gerber et al. 2013).

В настоящее время подходы к сокращению выбросов метана животноводством включают дефаунизацию пищеварительной системы и даже вакцинацию от метаногенов. Однако недостатками этих стратегий является то, что они могут уменьшить количество полезных кишечных микробов, а сами методы могут быть недолговечными из-за адаптации микроорганизмов. Кроме того, энергоснабжающие организации пытались собирать метан из навозонакопителей и прудов-отстойников в качестве биогазового топлива; однако эти методы неэффективны и не улавливают значительных количеств метана по сравнению с общим количеством метана, производимого животноводством.

Другие стратегии включали изменение рациона питания, особенно для выпаса домашних животных на пастбищах, с целью регулирования ферментации в кишечнике, например, путем прямого подавления метаногенов и простейших или путем отвода ионов водорода от метаногенов для уменьшения метаногенеза. Такие изменения рациона включают, например, добавление в корм пробиотиков, ацетогенов, бактериоцинов, ионофоров (например, монензина и лазалоцида), органических кислот и/или растительных экстрактов (например, танинов и/или морских водорослей). (Ishler 2016). Большинство антиметаногенных соединений дорогостоящие, недолговечные, дают противоречивые результаты, требуют высоких концентраций, не содержат акцепторов H_2 , не влияют на метаногены в форме биопленок и содержат соединения, которые легко разрушаются и/или выводятся из организма.

Определенные продукты с кормовыми добавками включают, например, Mootral, Bovier[®] и FutureFeed, каждый из которых имеет свои собственные ограничения. Mootral - это кормовая добавка, содержащая запатентованную комбинацию активных соединений чеснока и флавоноидов, полученных из цитрусовых. Действие этого продукта заключается в прямом ингибировании/уничтожении метаногенных бактерий. Однако фактическое сокращение выбросов метана, составляющее около 30%, невелико по сравнению с затратами на одну корову в год. Кроме того, продукт может увеличить содержание мочевины в молоке, что приводит к увеличению выработки закиси азота.

Bovier[®] это кормовая добавка, содержащая 3-нитрооксипропанол, который ингибирует метилкоэнзим М-редуктазу, фермент, катализирующий заключительную стадию метаногенеза. Фактическое сокращение содержания метана также является относительно низким, примерно на 30%, и довольно кратковременным по продолжительности. Кроме того, из-за отсутствия акцепторов H_2 продукт может вызывать рыбный запах в получаемом молоке из-за увеличения выработки триметиламина.

FutureFeed - это кормовая добавка, в которой используется особый вид морских водорослей, способных снизить выделение кишечного метана до 98%. Тем не менее, этот продукт стоит дорого (200 долларов за кг) и медленно оказывает устойчивое влияние на образование кишечных газов.

Животноводство играет важную роль, например, в производстве мясных и молочных продуктов; однако растущая обеспокоенность по поводу изменения климата и необходимость сокращения выбросов ПГ требуют совершенствования подходов к выращиванию домашних животных с сокращением выбросов ПГ.

КРАТКОЕ ИЗЛОЖЕНИЕ СУЩНОСТИ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Заявленное изобретение предлагает композиции и способы для сокращения выбросов в атмосферу парниковых газов от домашних животных. Более конкретно, в заявленном изобретении предлагаются композиции, приводящие при контакте с пищеварительной системой и/или отходами животноводства к сокращению выбросов парниковых газов (ПГ), которые в противном случае были бы выделены в результате

процессов пищеварения животных и/или их отходами. В качестве преимущества, композиции и способы могут также улучшать общее состояние здоровья домашних животных.

В отдельных вариантах осуществления настоящее изобретение предлагает композицию для улучшения пищеварения за счет сокращения содержания кишечного метана, углекислого газа и/или других вредных атмосферных газов и/или их исходных веществ, образующихся в пищеварительной системе и/или отходах домашних животных, причем композиция содержит один или более полезных микроорганизмов и/или один или более продуктов жизнедеятельности микроорганизмов. В предпочтительных вариантах осуществления изобретения, полезными микроорганизмами являются непатогенные грибы, дрожжи и/или бактерии, способные вырабатывать один или более следующих компонентов: поверхностно-активные вещества, такие как липопептиды и/или гликолипиды; биологически активные соединения с антимикробным и иммуномодулирующим действием; поликетиды; кислоты; пептиды; противовоспалительные соединения; ферменты, такие как протеазы, амилазы и/или липазы; и источники аминокислот, витаминов и других питательных веществ.

В предпочтительных вариантах осуществления изобретения обеспечивается преимущество, состоящее в том, что рассматриваемые композиции могут способствовать уменьшению выбросов в атмосферу вредных газов, возникающих в результате животноводства, путем контроля и/или подавления метаногенных микробов и/или их симбионтов, присутствующих в пищеварительной системе животного и/или отходах.

В одном варианте осуществления изобретения, композиция разрушает метаногенные биопленки. В одном варианте осуществления изобретения, композиция непосредственно подавляет метаногены и/или биологический путь, участвующий в метаногенезе.

В качестве преимуществ, в предпочтительных вариантах осуществления изобретения, заявленные композиции могут также сокращать количество избыточного H_2 , способного образовываться при подавлении метаногенеза, например, путем введения акцепторов H_2 .

В отдельных вариантах осуществления изобретения, композиция может быть составлена для энтерального и/или парентерального введения в пищеварительную систему домашнего животного. Например, в некоторых вариантах осуществления изобретения, композиция может быть составлена в виде сухих кормовых гранул, порошков и/или гранул для включения в зерно и/или фураж (например, пастбищные растения, сено, силос и/или пожнивные остатки).

В отдельных предпочтительных вариантах осуществления, композиция содержит один или несколько микроорганизмов и/или продукты их жизнедеятельности, причем микроорганизмы представляют собой бактерии, грибы и/или дрожжи.

Микроорганизмами могут быть, например, бактерии *Bacillus* spp.; миксобактерии; грибы *Pleurotus* spp.; грибы *Lentinula* spp.; грибы *Trichoderma* spp.; дрожжи *Saccharomyces* spp.; *Debaryomyces hansenii*; *Starmerella bombicola*; *Wickerhamomyces anomalus*; *Meyerozyma guilliermondii*; *Pichia occidentalis*; *Monascus purpureus*; и/или *Acremonium chrysogenum*.

Бактерии, когда они присутствуют, могут использоваться в форме спор, в виде вегетативных клеток и/или в виде их смеси.

Грибы могут быть в форме живых или неактивных клеток, мицелия, спор и/или плодовых тел. Плодовые тела, если они присутствуют, могут быть, например, измельчены и/или смешаны в виде гранул и/или порошка.

Дрожжи могут быть в форме живых или неактивных клеток, или спор, а также в форме высушенных и/или дремлющих клеток (например, дрожжевого гидролизата).

В предпочтительном варианте осуществления изобретения композиция содержит штамм *B. amyloliquefaciens*. В отдельном предпочтительном варианте осуществления изобретения, штамм *B. amyloliquefaciens* представляет собой *B. amyloliquefaciens* NRRL B-67928 ("*B. amy*"). Особое преимущество *B. amy* перед традиционными пробиотическими микроорганизмами заключается в его способности продуцировать споры, которые остаются жизнеспособными в пищеварительном тракте и, в некоторых вариантах осуществления изобретения, после выделения вместе с отходами животного. Кроме того, *B. amy* вырабатывает уникальную смесь метаболитов, которые обеспечивают широкий спектр полезных свойств для пищеварения и окружающей среды при употреблении домашними животными и/или добавлении в их отходы.

В одном иллюстративном варианте осуществления изобретения, композиция содержит *B. amy*. В одном иллюстративном варианте осуществления изобретения, композиция содержит *B. subtilis* «B4.» В одном иллюстративном варианте осуществления изобретения композиция содержит *Pleurotus ostreatus*. В одном иллюстративном варианте осуществления изобретения композиция содержит *Saccharomyces boulardii*. В одном иллюстративном варианте осуществления изобретения композиция содержит *Debaryomyces hansenii*.

В некоторых иллюстративных вариантах осуществления изобретения композиция может содержать любую комбинацию *B. amy*, *P. ostreatus*, *S. boulardii* и/или *D. hansenii*.

В одном варианте осуществления изобретения, композиция для улучшения пищеварения содержит продукт жизнедеятельности микроорганизмов. Продукт жизнедеятельности микроорганизмов может продуцироваться микроорганизмами композиции, и/или получен отдельно и добавлен к композиции.

В одном варианте осуществления изобретения, продукт жизнедеятельности микроорганизмов был очищен от питательной среды, в которой был получен. В другом варианте осуществления изобретения, продукт жизнедеятельности микроорганизмов

используют в неочищенном виде. Продукт в неочищенном виде может содержать, например, надосадочную жидкость, полученную в результате культивирования микроба, который продуцирует представляющий интерес продукт жизнедеятельности микроорганизмов, включая остаточные клетки и/или питательные вещества.

5 Продукты жизнедеятельности микроорганизмов могут включать метаболиты и/или другие биохимические вещества, образующиеся в результате роста клеток, включая, например, био-ПАВ, ферменты, поликетиды, кислоты, спирты, растворители, белки и/или пептиды.

10 В отдельных вариантах осуществления изобретения, композиция содержит усилитель прорастания для усиления прорастания спорообразующих микроорганизмов, используемых в композиции на основе микроорганизмов. В конкретных вариантах осуществления усилителями прорастания являются аминокислоты, такие как, например, L-аланин и/или L-лейцин. В одном варианте осуществления изобретения, усилителем прорастания является марганец.

15 В одном варианте осуществления изобретения, композиция содержит одну или несколько жирных кислот. В отдельных предпочтительных вариантах осуществления, жирная кислота представляет собой насыщенную длинноцепочечную жирную кислоту, имеющую углеродную цепочку из 14-20 атомов углерода, такую как, например, миристиновая кислота, пальмитиновая кислота или стеариновая кислота. В некоторых
20 вариантах осуществления изобретения, в композицию включена комбинация двух или нескольких насыщенных длинноцепочечных жирных кислот. В некоторых вариантах осуществления, насыщенная длинноцепочечная жирная кислота может подавлять метаногенез и/или повышать проницаемость клеточных мембран для метаногенов.

25 В некоторых вариантах осуществления, композиция может содержать дополнительные компоненты, которые, как известно, снижают содержание метана в пищеварительной системе домашних животных, такие как, например, морские водоросли (например, *Asparagopsis taxiformis* и/или *Asparagopsis armata*); ламинария; нитрооксипропанола (например, 3-нитрооксипропанол и/или этил-3-
30 нитрооксипропанол); антрахиноны; ионофоры (например, монензин и/или лазалоцид); полифенолы (например, сапонины, танины); экстракт *Yucca schidigera* (продуцент стероидного сапонины); экстракт *Quillaja saponaria* (виды растений, продуцирующие тритерпеноидный сапонин); сероорганические соединения (например, экстракт чеснока); флавоноиды (например, кверцетин, рутин, кемпферол, нарингин и антоцианидины; биофлавоноиды из зеленых цитрусовых, плодов шиповника и черной
35 смородины); карбоновая кислота; и/или терпены (например, d-лимонен, пинен и цитрусовые экстракты).

В одном иллюстративном варианте осуществления, композиция содержит микроорганизм, такой как, например, *B. amy*, и 3-нитрооксипропанол (3 NOP), органическое соединение, имеющее формулу $\text{HOCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{ONO}_2$. 3 NOP эффективен

для подавления одного или нескольких ферментов, участвующих в метаногенезе, например, метилкоэнзим М-редуктазы.

В одном варианте осуществления изобретения, заявленная композиция может содержать одно или несколько дополнительных веществ и/или питательных веществ для восполнения потребностей домашнего животного в питании и укрепления здоровья и/или состояния домашнего животного, такие как, например, источники аминокислот (включая незаменимые аминокислоты), пептиды, белки, витамины, микроэлементы, жиры, жирные кислоты, липиды, углеводы, стерины, ферменты, минералы, такие как кальций, магний, фосфор, калий, натрий, хлор, сера, хром, кобальт, медь, йод, железо, марганец, молибден, никель, селен и цинк, и/или другие биологически активные соединения, обладающие противовоспалительным, противомикробным и/или иммуномодулирующим действием на животных. В некоторых вариантах осуществления изобретения, микроорганизмы композиции вырабатывают и/или выделяют эти вещества.

В предпочтительных вариантах осуществления, настоящее изобретение обеспечивает способ уменьшения выбросов в атмосферу вредных газов путем сокращения выбросов метана, углекислого газа и/или других вредных атмосферных газов и/или их исходных веществ (например, азота и/или аммиака, которые являются исходными веществами закиси азота), образующихся в пищеварительных системах и/или в отходах домашних животных.

В некоторых особых вариантах осуществления, в соответствии с заявленным изобретением, способы включают контакт композиции для улучшения пищеварения с пищеварительной системой домашнего животного. Композицию можно вводить в пищеварительную систему домашнего животного энтерально и/или парентерально. Например, композицию можно вводить домашнему животному перорально, с кормом и/или питьевой водой; с помощью эндоскопии; путем прямой инъекции в одну или несколько частей пищеварительной системы; с помощью свечек; с помощью фекальной трансплантации; и/или клизмы.

В качестве преимуществ, в предпочтительных вариантах осуществления изобретения, способы приводят к прямому подавлению метаногенных бактерий и/или их симбионтов, разрушению метаногенных биопленок и/или нарушению биологического пути, вовлеченного в метаногенез в пищеварительной системе домашних животных, например, в рубце, желудке и/или кишечнике.

В определенных вариантах осуществления изобретения, способы могут также противодействовать истощению H_2 -акцепторов, возникающему в результате замедления метаногенеза. Соответственно, потенциальное негативное воздействие избытка H_2 на продукты животноводства может быть предотвращено и/или снижено. Например, избыток H_2 в пищеварительном тракте млекопитающих может вызывать рыбный запах в молоке из-за избыточного выделения триметиламина.

В некоторых вариантах осуществления, способы вызывают увеличение перехода азота в мышечную массу, тем самым уменьшая количество азота, которое доступно для образования аммиака и закиси азота.

В определенных вариантах осуществления изобретения, способы также сокращают выбросы ПГ из отходов домашних животных (например, мочи и/или навоза). В некоторых вариантах осуществления изобретения, полезные микроорганизмы композиции способны выживать при транспортировке через пищеварительную систему и выводятся из организма с отходами животного, где они продолжают подавлять метаногены и/или их симбионты, разрушая метаногенные биопленки, нарушая биологические пути, участвующие в метаногенезе, и/или компенсируя потерю акцептора H_2 . Композицию можно вводить в пищеварительную систему домашнего животного и/или непосредственно в продукт жизнедеятельности.

В некоторых особых вариантах осуществления, композицию можно вводить непосредственно в навозонакопитель, сбросный пруд, хранилище жидких отходов, резервуар или другой объект, где хранится и/или обрабатывается навоз домашних животных. В некоторых вариантах осуществления изобретения, обеспечивается преимущество, состоящее в том, что микроорганизмы в композиции способствуют увеличению скорости разложения навоза при одновременном сокращении количества метана и/или закиси азота, выделяющихся из него. Кроме того, в некоторых вариантах осуществления изобретения, введение композиции в навоз повышает ценность навоза в качестве органического удобрения благодаря способности микроорганизмов инокулировать почву, в которую вносится навоз. Затем микроорганизмы растут и, к примеру, улучшают биоразнообразие почвы, улучшают свойства ризосферы, а также улучшают рост и здоровье растений.

В некоторых вариантах осуществления, способы могут дополнительно включать добавление материалов для усиления роста микроорганизмов заявленной композиции при ее использовании (например, добавление питательных веществ и/или пребиотиков). В определенных вариантах осуществления, домашнему животному можно давать источник пребиотиков, который может содержаться, например, в сухом корме для животных, соломе, сене, люцерне, зерне, фураже, траве, фруктах, овощах, овсе и/или пожнивных остатках.

В некоторых вариантах осуществления изобретения, способы могут применяться для улучшения общего состояния здоровья домашних животных, например, путем поддержания здорового микробиома кишечника, улучшения пищеварения, увеличения коэффициента преобразования корма в мышечную массу, увеличения производства и качества молока, уменьшения и/или лечения обезвоживания и теплового стресса, модулирования иммунной системы и увеличения продолжительности жизни.

В некоторых вариантах осуществления, способы заявленного изобретения могут применяться животноводом для сокращения использования углеродных квот. Таким

образом, в определенных вариантах осуществления, заявленные способы могут дополнительно включать проведение измерений для оценки влияния способа на сокращение образования метана, диоксида углерода и/или других вредных атмосферных газов и/или их исходных веществ (например, азота и/или аммиака), и/или для оценки влияния способа на контроль метаногенов и/или простейших в пищеварительной системе и/или отходах домашних животных, используя стандартные методы в данной области.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ЧЕРТЕЖЕЙ

На **Фиг. 1** показаны биологические пути, участвующие в метаногенезе.

На **Фиг. 2** показаны результаты лабораторных исследований композиций в соответствии с вариантами осуществления настоящего изобретения для определения их способности сокращать выбросы кишечного метана из рубца крупного рогатого скота.

На **Фиг. 3** показаны результаты лабораторных исследований композиций в соответствии с вариантами осуществления настоящего изобретения, для определения их способности сокращать выбросы кишечного углекислого газа из рубца крупного рогатого скота.

На **Фиг. 4** показаны результаты исследований *B. amy* в лабораторных условиях при различных процентах ввода вещества, для определения его способности сокращать выбросы кишечного метана из рубца крупного рогатого скота.

На **Фиг. 5** показаны результаты исследований *B. amy in* в лабораторных условиях при различных процентах ввода для определения его способности сокращать выбросы кишечного углекислого газа из рубца крупного рогатого скота.

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Заявленное изобретение предлагает композиции и способы для снижения выбросов в атмосферу парниковых газов, образующихся в результате животноводства. Более конкретно, в заявленном изобретении предлагаются композиции, которые при контакте с пищеварительной системой и/или отходами домашних животных приводят к сокращению выбросов парниковых газов, которые в противном случае образовались бы в результате процессов пищеварения животного. В некоторых вариантах осуществления изобретения, обеспечивается преимущество, состоящее в том, что композиции и способы могут также улучшать общее состояние здоровья и продуктивность домашних животных.

В определенных вариантах осуществления, заявленное изобретение предлагает композицию для улучшения пищеварения за счет сокращения метана, углекислого газа и/или других вредных атмосферных газов и/или их исходных веществ, образующихся в пищеварительной системе и/или отходах домашних животных, причем композиция содержит один или более полезных микроорганизмов и/или один или более продуктов жизнедеятельности микроорганизмов.

Специальные определения

В контексте данного изобретения “биопленка” представляет собой сложную совокупность микроорганизмов, таких как бактерии, в которой клетки прилипают друг к другу и/или к поверхности. Клетки в биопленках физиологически отличаются от планктонных клеток того же организма, которые представляют собой отдельные клетки, способные плавать в жидкой среде.

В контексте данного изобретения термин “контроль”, используемый в отношении нежелательного микроорганизма (например, метаногена), распространяется на акт уничтожения, выведения из строя, обездвиживание и/или уменьшение численности популяции микроорганизма и/или иным образом делает микроорганизм неспособным к размножению и/или осуществлению нежелательных процессов (например, образование метана).

В контексте данного изобретения, “пищеварительная система” относится к системе органов в теле животного, которая обеспечивает переваривание или потребление пищи и превращение ее в энергию и отходы. Пищеварительная система может содержать, например, ротовую полость, пищевод, зоб, мышечный желудок, железистый желудок, желудок, рубец, сетку, книжку, сычуг, поджелудочную железу, печень, тонкую кишку, толстую кишку (ободочную кишку), слепую кишку, аппендикс и/или задний проход. Также предусмотрены дополнительные органы или части, связанные с пищеварением и характерные для конкретного животного.

В контексте данного изобретения, “выделенная” или “очищенная” молекула нуклеиновой кислоты, полинуклеотид, полипептид, белок, органическое соединение, такое как небольшая молекула (например, описанные ниже), или другое соединение, по существу, не содержит других соединений, таких как клеточный материал, с которым оно связано в природе. Например, очищенный или выделенный полинуклеотид (рибонуклеиновая кислота (РНК) или дезоксирибонуклеиновая кислота (ДНК)) свободен от генов или последовательностей, которые окружают его в его естественном состоянии. Очищенный или выделенный полипептид свободен от аминокислот или последовательностей, которые окружают его в его естественном состоянии. Очищенный или выделенный штамм микроорганизмов удаляют из окружающей среды, в которой он существует в природе. Таким образом, выделенный штамм может существовать, например, в виде биологически чистой культуры или в виде спор (или других форм штамма) в ассоциации с носителем.

В определенных вариантах осуществления изобретения, очищенные соединения составляют по меньшей мере 60% от массы представляемого соединения. Предпочтительно, чтобы препарат составлял по меньшей мере 75%, более предпочтительно по меньшей мере 90% и наиболее предпочтительно по меньшей мере 99% от массы представляемого соединения. Например, очищенным соединением является такое соединение, которое составляет по меньшей мере 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 98%, 99%, или 100% (масс. доля) требуемого соединения по массе. Степень

чистоты измеряется любым подходящим стандартным методом, например, с помощью колоночной хроматографии, тонкослойной хроматографии или высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ).

В контексте данного изобретения, “ионофоры” представляют собой нетерапевтические антибиотики на основе карбоновых полиэфиров, которые нарушают градиент концентрации ионов (Ca^{2+} , K^{+} , H^{+} , Na^{+}) в микроорганизмах, что заставляет их вступать в пустой ионный цикл. Нарушение концентрации ионов мешает микроорганизму поддерживать нормальный метаболизм и заставляет микроорганизм расходовать дополнительную энергию. Ионофоры функционируют путем отбора грамположительных бактерий, таких как метаногены и простейшие, противодействующих или отрицательно влияющих на метаболизм.

“Метаболит” относится к любому веществу, образующемуся в результате метаболизма (например, продукт жизнедеятельности), или веществу, необходимому для участия в конкретном метаболическом процессе. Метаболитом может быть органическое соединение, которое является исходным материалом, промежуточным звеном или конечным продуктом метаболизма. Примеры метаболитов могут включать, в том числе, ферменты, токсины, кислоты, растворители, спирты, белки, углеводы, витамины, минералы, микроэлементы, аминокислоты, полимеры, поликетиды и поверхностно-активные вещества.

В контексте данного изобретения, “метаноген” - это микроорганизм, который выделяет метан в качестве побочного продукта метаболизма. Метаногены - это археобактерии, которые можно обнаружить в пищеварительной системе и метаболических отходах жвачных и нежвачных животных (например, свиней, домашней птицы и лошадей). Примеры метаногенов включают, в том числе, *Methanobacterium* spp. (например, *M. formicicum*), *Methanobrevibacter* spp. (например, *M. ruminantium*), *Methanococcus* spp. (например, *M. paripaludis*), *Methanoculleus* spp. (например, *M. bourgensis*), *Methanoforens* spp. (например, *M. stordalenmirensis*), *Methanofollis liminatans*, *Methanogenium wolfei*, *Methanomicrobium* spp. (например, *M. mobile*), *Methanopyrus kandleri*, *Methanoregula boonei*, *Methanosaeta* spp. (например, *M. concilii*, *M. thermophile*), *Methanosarcina* spp. (например, *M. barkeri*, *M. mazei*), *Methanosphaera stadtmanae*, *Methanospirillum hungatei*, *Methanothermobacter* spp., и/или *Methanothermobacter soehngenii*.

Представленные здесь диапазоны понимаются как условное обозначение для всех значений в пределах диапазона. Например, диапазон от 1 до 50 понимается как включающий любое число, комбинацию чисел или поддиапазон из группы, содержащей 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 47, 48, 49 или 50, а также все промежуточные десятичные значения между вышеупомянутыми целыми числами, такие как, например, 1.1, 1.2, 1.3, 1.4, 1.5, 1.6, 1.7, 1.8, и 1.9. Что касается поддиапазонов, то специально предусмотрены “вложенные поддиапазоны”,

которые простираются от любой конечной точки диапазона. Например, вложенный поддиапазон иллюстративного диапазона от 1 до 50 может содержать от 1 до 10, от 1 до 20, от 1 до 30 и от 1 до 40 в одном направлении или от 50 до 40, от 50 до 30, от 50 до 20 и от 50 до 10 в другом направлении.

5 В контексте данного изобретения, “уменьшение” означает отрицательное изменение, а “увеличение” означает положительное изменение, причем положительное или отрицательное изменение, по меньшей мере, 0.25%, 0.5%, 1%, 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95% или 100%.

10 Переходный термин “содержащий”, который является синонимом “включающего” или “содержащего”, является всеобъемлющим или открытым и не исключает дополнительных, не перечисленных элементов или этапов способа. Напротив, переходная фраза “состоящий из” исключает любой элемент, стадию или ингредиент, не указанные в формуле изобретения. Переходная фраза “состоящий по
15 существу из” ограничивает объем формулы изобретения указанными материалами или этапами “и всем, что существенно не влияет на основные и новые признаки (признак)” заявленного изобретения. Использование термина “содержащий” предполагает другие варианты осуществления, которые “состоят”, или “состоят по существу из” указанного компонента (компонентов).

20 Если специально не указано или не очевидно из контекста, в контексте данного изобретения термин “или” понимается как включающий. Если специально не указано или не очевидно из контекста, в контексте данного изобретения артикли “a” и “the” понимаются как единственное или множественное число.

Если специально не указано или не очевидно из контекста, в контексте данного
25 изобретения термин “приблизительно” понимается как находящийся в пределах нормального допуска в данной области техники, например, в пределах 2 стандартных отклонений от среднего значения. Примерно можно понимать, как внутри 10%, 9%, 8%, 7%, 6%, 5%, 4%, 3%, 2%, 1%, 0.5%, 0.1%, 0.05%, или 0,01% от заданного значения.

Указание списка химических групп в любом определении переменной в
30 настоящем документе включает определения этой переменной как любой отдельной группы или комбинации перечисленных групп. Указание варианта осуществления для переменной или аспекта в настоящем документе включает этот вариант осуществления в качестве любого отдельного варианта осуществления или в комбинации с любыми другими вариантами осуществления или их частями.

35 Все приведенные в настоящем документе ссылки включаются в настоящий документ в полном объеме.

Композиции для улучшения работы пищеварительной системы

40 В предпочтительных вариантах осуществления, заявленное изобретение предлагает композицию для улучшения пищеварения за счет уменьшения содержания метана, углекислого газа и/или других вредных атмосферных газов и/или их исходных

веществ, образующихся в пищеварительной системе и/или отходах домашних животных причем композиция содержит один или несколько полезных микроорганизмов и/или один или несколько продуктов жизнедеятельности микроорганизмов.

В определенных вариантах осуществления, композиция для улучшения пищеварения представляет собой “композицию на основе микроорганизмов”, что означает композицию, содержащую компоненты, которые были получены в результате роста микроорганизмов или других клеточных культур. Таким образом, композиция на основе микроорганизмов может содержать сами микроорганизмы и/или продукты жизнедеятельности микроорганизмов. Микроорганизмы могут находиться в вегетативном состоянии, в форме спор, в мицелиальной форме, в любой другой форме микробного размножения или в виде их смеси. Микроорганизмы могут быть планктонными или в форме биопленки, или являться смесью того и другого. Продуктами жизнедеятельности могут быть, например, метаболиты, компоненты клеточной мембраны, экспрессируемые белки и/или другие клеточные компоненты. Микроорганизмы могут быть интактными или лизированными. Клетки могут полностью отсутствовать или присутствовать, например, в концентрации 1×10^4 , 1×10^5 , 1×10^6 , 1×10^7 , 1×10^8 , 1×10^9 , 1×10^{10} , 1×10^{11} , 1×10^{12} , 1×10^{13} или более КОЕ на миллилитр композиции.

В качестве преимуществ, в предпочтительных вариантах осуществления изобретения, заявленные композиции могут изменять процессы пищеварения у домашних животных, обуславливая уменьшение образования кишечных газов, поступающих в атмосферу.

В некоторых вариантах осуществления изобретения, заявленные композиции могут использоваться для уменьшения образования метана, углекислого газа и/или закиси азота в животноводстве и/или отходах животноводства. Например, композиции могут непосредственно подавлять или контролировать метаногенные бактерии и/или их симбионты в пищеварительной системе животного и/или отходах, а также нарушать целостность и/или образование биопленок, создаваемых метаногенами. Кроме того, в некоторых вариантах осуществления, композиции могут вмешиваться в биологические пути, участвующие в метаногенезе. Вдобавок, в некоторых вариантах осуществления изобретения, композиции могут компенсировать потерю соединений - акцепторов H_2 , которая возникает при снижении метаногенеза.

В некоторых вариантах осуществления, композиция может также способствовать росту и здоровью домашних животных, обеспечивая при этом более полную трансформацию источников белка в кормах для уменьшения выделения азота в отходах жизнедеятельности животных в форме, например, аммиака и/или мочи. В некоторых вариантах осуществления изобретения, обеспечивается преимущество, состоящее в том, что это может привести к уменьшению образования закиси азота.

В предпочтительных вариантах осуществления, полезными микроорганизмами заявленных композиций являются непатогенные грибы, дрожжи и/или бактерии. Полезные микроорганизмы могут находиться в активном, неактивном и/или спящем состоянии. В предпочтительных вариантах осуществления микроорганизмом считается такой, который характеризуется соответствующим регулирующим органом как “общепризнанный безопасным”, или GRAS.

Микроорганизмы заявленного изобретения могут быть природного происхождения или генетически модифицированными. Например, микроорганизмы могут быть преобразованы с помощью специфичных генов для проявления специфических характеристик. Микроорганизмы также могут быть мутантами искомого штамма. В контексте данного изобретения, “мутант” означает штамм, генетический вариант или подтип эталонного микроорганизма, в котором мутант имеет одну или несколько генетических вариаций (например, точечную мутацию, миссенс-мутацию, нонсенс-мутацию, делецию, дупликацию, мутацию со сдвигом рамки или повторную экспансию) по сравнению с эталонным микроорганизмом. Процедуры получения мутантов хорошо известны в области микробиологии. Например, с этой целью широко используются УФ-мутагенез и нитрозогуанидин.

В некоторых вариантах осуществления изобретения, полезные микроорганизмы отбираются на основе естественной или приобретенной устойчивости к определенным антибиотикам, вводимым домашнему животному, например, для борьбы с патогенными и/или вредными микроорганизмами в пищеварительной системе или в других частях тела животного.

В некоторых вариантах осуществления, полезные микроорганизмы заявленной композиции способны выживать при транспортировке через пищеварительную систему домашних животных и выделяются с отходами животного (например, навозом). Таким образом, в определенных вариантах осуществления, ввод композиции животному согласно вариантам осуществления настоящего изобретения может привести к уменьшению выработки парниковых газов в отходах животного за счет подавления метаногенов и/или их симбионтов, разрушения биопленок метаногена, вмешательства в биологические пути, участвующие в метаногенезе, и компенсации потери акцептора H_2 .

В одном конкретном варианте осуществления, композиция содержит примерно от 1×10^6 до примерно 1×10^{13} , примерно от 1×10^7 до примерно 1×10^{12} , примерно от 1×10^8 до примерно 1×10^{11} , или примерно от 1×10^9 до примерно 1×10^{10} КОЕ/г каждого вида микроорганизмов, присутствующих в композиции.

В одном варианте осуществления изобретения, композиция содержит примерно от 1 до 100% микроорганизмов в целом по объему, примерно от 10 до 90% или примерно от 20 до 75%.

В иллюстративном варианте осуществления, количество микроорганизмов при одном применении композиции составляет примерно от 1 до 100 граммов на голову (отдельные животные в стаде или отаре), или примерно от 5 до примерно 85 граммов на

голову, или примерно от 10 до примерно 70 граммов на голову, или примерно от 15 до 50 граммов на голову.

В отдельных предпочтительных вариантах осуществления изобретения, композиция содержит одну или несколько бактерий и/или продукты их жизнедеятельности. Бактериями могут быть, например, *Mucosoccus* sp. (например, *M. xanthus*), и/или одна или несколько бактерий *Bacillus* spp. В отдельных вариантах осуществления, the *Bacillus* spp. представляют собой *B. amyloliquefaciens*, *B. subtilis* (например, штамм “B4”) и/или *B. licheniformis*. Бактерии могут использоваться в форме спор, в виде вегетативных клеток и/или в виде их смеси.

В одном варианте осуществления изобретения, композиция содержит *B. amyloliquefaciens*. В предпочтительном варианте, штамм *B. amyloliquefaciens* представлен *B. amyloliquefaciens* NRRL B-67928 (“*B. amy*”).

Культура микроорганизма *B. amyloliquefaciens* “*B. amy*” была депонирована в Службу сельскохозяйственных исследований Северной региональной исследовательской лаборатории (NRRL), 1400 Индепенденс Авеню, С.В., Вашингтон, ДС, 20250, США. Культуре депозитарием присвоен инвентарный номер NRRL B-67928 культура была депонирована 26 февраля 2020 г.

Культура была депонирована на условиях, гарантирующих, что доступ к культуре будет предоставлен в течение срока рассмотрения настоящей заявки на патент лицу, указанному Руководителем Патентного ведомства, который имеет на это право в соответствии с 37 CFR 1.14 и 35 U.S.C 122. Депонированная культура доступна в соответствии с требованиями иностранного патентного законодательства в странах, в которых поданы копии соответствующей заявки или связанные с ней документы. Однако следует понимать, что доступ к депонированной культуре не является лицензией на использование заявленного изобретения в нарушение патентных прав, предоставляемых государственной властью.

Кроме того, депонированная заявленная культура будет храниться и находиться в открытом доступе в соответствии с положениями Будапештского договора о депонировании микроорганизмов, т.е. он будет храниться со всей осторожностью, необходимой для поддержания его жизнеспособности и чистоты в течение, по крайней мере, пяти лет после последнего запроса о предоставлении образца депонированной культуры, и в любом случае, в течение периода не менее 30 (тридцати) лет после даты депонирования или в течение возможного срока действия любого патента, раскрывающего культуру. Депонент признает обязанность заменить депонированную культуру, если депозитарий не сможет предоставить образец по запросу из-за состояния депонированной культуры. Все ограничения на доступность для общественности депонированного штамма культуры будут окончательно сняты после выдачи патента, раскрывающего его.

В одном варианте осуществления изобретения, полезными микроорганизмами являются дрожжи и/или грибы. Виды дрожжей и грибов, пригодные для использования

согласно настоящему изобретению, включают *Acaulospora*, *Acremonium chrysogenum*, *Aspergillus*, *Aureobasidium* (например, *A. pullulans*), *Blakeslea*, *Candida* (например, *C. albicans*, *C. apicola*, *C. batistae*, *C. bombicola*, *C. floricola*, *C. kuoi*, *C. riodocensis*, *C. nodaensis*, *C. stellate*), *Cryptococcus*, *Debaryomyces* (например, *D. hansenii*),
5 *Entomophthora*, *Hanseniaspora* (например, *H. uvarum*), *Hansenula*, *Issatchenkia*, *Kluyveromyces* (например, *K. phaffii*), *Lentinula* spp. (например, *L. edodes*), *Meyerozyma* (например, *M. guilliermondii*), *Monascus purpureus*, *Mortierella*, *Mucor* (например, *M. piriformis*), *Penicillium*, *Phythium*, *Phycomyces*, *Pichia* (например, *P. anomala*, *P. guilliermondii*, *P. occidentalis*, *P. kudriavzevii*), *Pleurotus* (например, *P. ostreatus* *P.*
10 *ostreatus*, *P. sajorcaju*, *P. cystidiosus*, *P. cornucopiae*, *P. pulmonarius*, *P. tuberregium*, *P. citrinopileatus* and *P. flabellatus*), *Pseudozyma* (например, *P. aphidis*), *Rhizopus*, *Rhodotorula* (например, *R. bogoriensis*), *Saccharomyces* (например, *S. cerevisiae*, *S. bouldardii*, *S. torula*), *Starmerella* (например, *S. bombicola*), *Torulopsis*, *Thraustochytrium*, *Trichoderma* (например, *T. reesei*, *T. harzianum*, *T. viridae*), *Ustilago* (например, *U.*
15 *maydis*), *Wickerhamiella* (например, *W. domericqiae*), *Wickerhamomyces* (например, *W. anomalus*), *Williopsis* (например, *W. mrakii*), *Zygosaccharomyces* (например, *Z. bailii*), и другие.

В некоторых особых вариантах осуществления, композиция содержит один или несколько грибов и/или один или несколько продуктов их жизнедеятельности. Грибами
20 могут быть, например, грибы *Pleurotus* spp., например, *P. ostreatus* (вешенки), грибы *Lentinula* spp., например, *L. edodes* (шиитакэ), и/или грибы *Trichoderma* spp., например, *T. viridae*. Грибы могут быть в форме живых или неактивных клеток, мицелия, спор и/или плодовых тел. Плодовые тела, если они присутствуют, могут быть, например, измельчены и/или смешаны в виде гранул и/или порошка.

В некоторых особых вариантах осуществления, композиция содержит одни или несколько дрожжей и/или один или несколько продуктов их жизнедеятельности. Дрожжами могут быть, например, *Wickerhamomyces anomalus*, *Saccharomyces* spp. (например, *S. cerevisiae* и/или *S. bouldardii*), *Debaryomyces hansenii*, *Starmerella bombicola*, *Meyerozyma guilliermondii*, *Pichia occidentalis*, *Monascus purpureus*, и/или
30 *Acremonium chrysogenum*. Дрожжи могут быть в форме живых или неактивных клеток, или спор, а также в форме высушенных и/или дремлющих клеток (например, дрожжевого гидролизата).

В одном иллюстративном варианте осуществления, композиция содержит штамм *B. amyloliquefaciens*, например, *B. amy*. В другом иллюстративном варианте
35 осуществления, композиция содержит *P. ostreatus* и *S. bouldardii*. В другом иллюстративном варианте осуществления, композиция содержит *D. hansenii*. В еще одном иллюстративном варианте осуществления, композиция содержит *B. amy*, *P. ostreatus*, *S. bouldardii* или *D. hansenii*, и/или любую их комбинацию.

В одном варианте осуществления изобретения, композиция на основе
40 микроорганизмов содержит продукт жизнедеятельности микроорганизмов. Продукт

жизнедеятельности микроорганизмов может быть выработан микроорганизмами композиции, и/или может быть получен отдельно и добавлен к композиции.

В одном варианте осуществления, продукт жизнедеятельности очищают от среды культивирования, в которой он был получен. В другом варианте осуществления изобретения, продукт жизнедеятельности используют в неочищенном виде. Продукт в неочищенном виде может содержать, например, надосадочную жидкость, полученную в результате культивирования микроба, который продуцирует представляющий интерес продукт жизнедеятельности, включая остаточные клетки и/или питательные вещества.

Продукты жизнедеятельности микроорганизмов могут включать метаболиты или другие биохимические вещества, образующиеся в результате роста клеток, включая, например, аминокислоты, пептиды, поликетиды, антибиотики, белки, ферменты, биосурфактанты, растворители, витамины и/или другие метаболиты.

Микроорганизм(ы) и/или продукт(продукты) жизнедеятельности микроорганизмов, присутствующие в композиции, могут быть полезны для подавления метаногенов и/или пути метаногенеза, разрушения биопленок метаногена и/или уменьшения накопления H_2 в пищеварительной системе домашних животных. Кроме того, в предпочтительных вариантах осуществления, композиция может быть полезной для улучшения общего состояния здоровья домашнего животного.

20 *Bacillus* spp.

В определенных вариантах осуществления, композиция содержит *B. amyloliquefaciens* и/или продукты его жизнедеятельности. *B. amyloliquefaciens* особенно хорош по сравнению с традиционными пробиотическими микроорганизмами благодаря своей способности продуцировать споры, которые остаются жизнеспособными в пищеварительном тракте и, в некоторых вариантах осуществления, после выделения с отходами животного. Кроме того, *B. amyloliquefaciens* вырабатывает уникальную смесь метаболитов, которые обеспечивают широкий спектр полезных свойств для пищеварения и окружающей среды при введении домашним животным и/или в его отходы.

В определенных вариантах осуществления, как показано в таблице 1 ниже, продукты жизнедеятельности могут непосредственно подавлять метаногены, разрушать метаногенные биопленки и/или снижать концентрацию H_2 в пищеварительной системе домашних животных.

Таблица 1. Иллюстративные продукты жизнедеятельности *B. amyloliquefaciens* для уменьшения метаногенеза и содержания H_2

Функция (функции)	Продукт (продукты) жизнедеятельности	Примеры (продуцируемые <i>B. amyloliquefaciens</i>)
Подавление метаногенов	Ферменты	Протеиназа К (и/или ее гомолог): может особым образом лизировать псевдомуреин, основной структурный

		компонент клеточной стенки некоторых архей, включая метаногены. Дегидрогеназа дигликолевой кислоты (DGADH) (и/или ее гомолог): может разрушать эфирные связи между глицериновой основой и жирными кислотами фосфолипидного слоя мембран архейных клеток.
	Органические кислоты	Пропионовая кислота и/или уксусная кислота: могут нарушать структуру мембран архейных клеток.
Разрушение метаногенных биопленок	Липопептидные био-ПАВ; Гликолипидные био-ПАВ; Поликетины	Сурфактин, фенгизин, итурин, бацилломицин, лихенизин, диффицидин и/или гликолипид на основе мальтозы: могут препятствовать образованию и/или сохранению экзополисахаридной матрицы, которая образует биопленки, тем самым нарушая формирование и/или адгезионную способность биопленки.
Уменьшение содержания H_2	Органические кислоты	Пропионовая кислота: может стимулировать ацетогенные микроорганизмы, которые вырабатывают уксусную кислоту из водорода и углекислого газа. Это приводит к снижению доступности водорода для метаногенных микробов для осуществления метаногенеза, а также помогает предотвратить повышение концентрации H_2 при ослаблении метаногенеза. Повышенное содержание H_2 может привести к накоплению триметиламина в пищеварительной системе, что вызывает “рыбный” запах в вырабатываемом молоке.

В одном варианте осуществления изобретения, как показано в таблице 2 ниже, композиция содержит *B. amy* и/или продукты его жизнедеятельности, которые могут улучшать общее состояние здоровья и продуктивность домашних животных,

посредством различных функций, способствующих укреплению здоровья. Таким образом, в некоторых вариантах осуществления *B. ату* может служить в качестве пробиотика при введении животному.

Таблица 2. Иллюстративные продукты жизнедеятельности *B. ату* для улучшения здоровья домашних животных

Функция (функции)	Продукт (продукты) жизнедеятельности	Примеры (продуцируемые <i>B. ату</i>)
Регулирование микрофлоры кишечника	Биологические поверхностно-активные вещества; Природные антибиотики; Органические кислоты	Биологические поверхностно-активные вещества, включая липопептиды и гликолипиды, а также природные антибиотики (например, поликетиды, пенициллины, цефалоспорины, валидамицины, карбапанемы и нокардицины): могут подавлять рост патогенных или других вредных кишечных микроорганизмов (например, <i>Anaeroplasmа</i>, <i>Acholeplasmа</i> и некоторых грибов) путем, например, вмешательства в клеточную мембрану патогенного или вредного микроорганизма и/или структуру биопленки. Органические кислоты, такие как пропионовая кислота: могут способствовать росту полезных кишечных микроорганизмов (например, <i>Proteobacteria</i>, <i>Rhodospirillaceae</i>, <i>Campylobacterales</i> и <i>Butyricimonas</i>), например, путем изменения pH пищеварительной системы в более благоприятную для такого роста среду. В определенных вариантах осуществления, регулирование микрофлоры кишечника также приводит к уменьшению выбросов закиси азота вследствие

		уменьшения количества кишечных бактерий, окисляющих аммиак.
Стимулирование гормонов роста (например, GH /IGH-1); увеличение скорости набора веса; и усиление преобразования корма в мышцы за счет улучшения пищеварения	Органические кислоты; Биологические поверхностно-активные вещества; Пищеварительные ферменты	Органические кислоты, такие как бутират и валерат короткоцепочечных жирных кислот: способны улучшать пищеварение, например, за счет совершенствования функции кишечных и/или рубцовых клеток. Липопептидные и гликолипидные ПАВ: могут улучшать пищеварение, например, повышая биодоступность питательных веществ и воды через клетки кишечника/рубца и улучшая их всасывание в кровоток. Пищеварительные ферменты, такие как амилазы, липазы и протеазы (например, коллагеназоподобная протеаза, пептидаза E (N-концевая Asp- специфичная дипептидаза), пептидаза s8 (субтилизин- подобная сериновая пептидаза), сериновая пептидаза и эндопептидаза La): могут улучшить преобразование корма в мышечную массу за счет улучшения переваривания белков, жиров и углеводов в корме, которые в противном случае могут быть трудными или невозможными для переваривания животными. Кроме того, поскольку азот необходим для преобразования корма в мышечную массу,

		повышенное поглощение азота пищеварительной системой в связи с улучшением процесса перехода в мышечную массу может привести к меньшему количеству исходных продуктов закиси азота и, соответственно, к меньшему выбросу закиси азота.
Повышение количества и качества вырабатываемого молока у млекопитающих	Лигноцеллюлолитические ферменты; Фолиевая кислота/фолат	Лигноцеллюлозные ферменты, такие как целлюлоза, ксиланаза, лакказа и марганцевая каталаза: могут улучшать расщепление полисахаридов, таких как целлюлоза, ксилан, гемицеллюлоза и лигнин, до компонентов, необходимых для производства молока. Фолат: может способствовать увеличению выработки молока, например, за счет усиления метаболизма в молочной железе. Кроме того, фолат является важным питательным веществом, например, для роста и развития нервной системы. Таким образом, повышенное содержание фолата в произведенном молоке способствует улучшению питательных качеств молока для кормления детей, тем самым потенциально сокращая время, необходимое для отлучения от груди, и/или увеличивая рост и выживаемость детей.
Повышение иммунитета, средней продолжительности жизни и общего состояния здоровья	Витамины	Рибофлавин, вырабатываемый рибофлавинсинтазой: способен оказывать антиноцицептивное и противовоспалительное действие на домашних животных. Фолат, вырабатываемый с

		помощью бифункционального белка синтеза фолата: может способствовать регулированию преобразования энергии, экспрессии генов и продуцирования ДНК, в дополнение к тому, что он является противовоспалительным средством. Убихинон (CoQ10), вырабатываемый с помощью О-метилтрансферазы биосинтеза убихинона: способен, как антиоксидант, предотвращать окисление липопротеинов низкой плотности, что может привести к атеросклерозу.
--	--	---

В некоторых вариантах осуществления, композиция может содержать другие виды *Bacillus*, такие как, например, *B. licheniformis* и/или *B. subtilis*. В некоторых вариантах осуществления изобретения, *B. licheniformis* может снижать выработку метана метаногенами и подавлять сами метаногенные бактерии посредством выработки пропионовой кислоты и других метаболитов, таких как липопептидные биологические поверхностно-активные вещества. Кроме того, *B. licheniformis* могут способствовать снижению концентрации аммиака в рубцовой жидкости крупного рогатого скота, помогая увеличить выработку молочного белка. У свиней *B. licheniformis* и *B. subtilis* могут способствовать увеличению количества лактобацилл в фекалиях, повышению усвояемости азота и уменьшению выделения аммиака и меркаптанов.

Pleurotus ostreatus

В определенных вариантах осуществления, как показано в таблице 3 ниже, композиция содержит *P. ostreatus* и/или его продукты жизнедеятельности, причем продукты жизнедеятельности могут непосредственно подавлять метаногены, разрушать метаногенные биопленки и/или снижать концентрацию H_2 в пищеварительной системе домашних животных.

Таблица 3. Иллюстративные продукты жизнедеятельности *P. ostreatus* для уменьшения метаногенеза

Функция (функции)	Продукт (продукты) жизнедеятельности	Примеры (Продуцируемые <i>P. ostreatus</i>)

Подавление метаногенов	Поликетиды	Ловастатин и/или его гомологичный поликетид: может ингибировать ГМГ-КоА-редуктазу, фермент, участвующий в образовании изопrenoидных строительных блоков, которые необходимы для синтеза клеточных мембран архей. Благодаря ловастатину обеспечивается преимущество, состоящее в том, что он может подавлять рост метаногенов без вредного воздействия на другие целлюлозолитические бактерии в пищеварительной системе.
Разрушение метаногенных биопленок	Липопептидные био-ПАВ	Липопептидные био-ПАВ, такие как сурфактины, итурины, фенгицины и лихенизины: могут препятствовать образованию и/или сохранению экзополисахаридной матрицы, которая образует биопленки, тем самым нарушая формирование и/или адгезионную способность биопленки.

В определенных вариантах осуществления композиция, содержащая *P. ostreatus*, должна дополняться акцептором H_2 , чтобы уменьшить накопление H_2 , возникающее в результате ослабления метаногенеза. Например, в некоторых вариантах осуществления, *B. amy*, *Saccharomyces boulardii* и/или *Debaryomyces hansenii* могут присутствовать для доставки акцепторов H_2 в пищеварительную систему

В одном варианте осуществления, как показано в таблице 4 ниже, композиция также содержит продукты жизнедеятельности *P. Ostreatus*, которые могут улучшать общее состояние здоровья и продуктивность домашних животных, выполняя различные функции, способствующие укреплению здоровья. Таким образом, в некоторых вариантах осуществления *P. ostreatus* может служить в качестве пробиотика при введении животному.

Таблица 4. Иллюстративные продукты жизнедеятельности *P. ostreatus* для улучшения здоровья домашних животных

Функция (функции)	Продукт (продукты) жизнедеятельности	Примеры (Продуцируемые <i>P. ostreatus</i>)
-------------------	--------------------------------------	--

Регулирование микрофлоры кишечника	Регулирование микрофлоры кишечника; Природные антибиотики; Короткоцепочечные жирные кислоты	Липопептидные био-ПАВ, а также природные антибиотики (например, плевротин, лейкоплевротин и дигидроплевротиновая кислота): могут ингибировать рост патогенных или других вредных кишечных микроорганизмов путем, например, вмешательства в клеточную мембрану патогенного или вредного микроорганизма и/или структуру биопленки. Короткоцепочечные жирные кислоты, такие как линолевая кислота и S-кориоловая кислота: могут быть токсичными для некоторых видов нематод и могут подавлять рост патогенных бактерий. Другие вторичные метаболиты <i>P. ostreatus</i> также могут обладать подавляющей активностью в отношении вредных видов дрожжей, таких как <i>C. albicans</i>, <i>P. aeruginosa</i>, и <i>S. aureus</i>.
Улучшение скорости роста и эффективности пищеварения, в том числе смягчение диареи	Био-ПАВ; Короткоцепочечные жирные кислоты; Лигноцеллюлолитические ферменты; Питательные вещества	Био-ПАВ, включая липопептиды: способны улучшать пищеварение, например, путем повышения биодоступности питательных веществ и воды через клетки кишечника/рубца и улучшения их всасывания в кровоток. Короткоцепочечные жирные кислоты, такие как линолевая кислота и S-кориоловая кислота: могут увеличить всасывание минералов в пищеварительной системе. Лигноцеллюлитные ферменты, такие как целлюлоза, ксиланаза,

		лакказа и пероксидаза марганца: способны усиливать переваривание полисахаридов, таких как целлюлоза, ксилан, гемицеллюлоза и лигнин. <i>Pleurotus ostreatus</i> является источником питательных веществ, способствующих росту, в том числе селена и белка. <i>Pleurotus ostreatus</i> содержит 30-35% белка по весу и от 55 до 60 мкг/г селена. Селен является важным микро-элементом для крупного рогатого скота, участвует в правильной работе иммунной системы, действует как антиоксидант и помогает активировать гормоны щитовидной железы. Дефицит селена приводит к повреждению мышц, увеличению частоты заболеваний, нарушению роста и снижению репродуктивного потенциала.
Повышение количества и качества вырабатываемого молока у млекопитающих	Лигноцеллюлолитические ферменты	Лигноцеллюлолитические ферменты, такие как целлюлоза, ксиланаза, лакказа и марганцевая каталаза, способны усиливать переваривание полисахаридов, таких как целлюлоза, ксилан, гемицеллюлоза и лигнин, в компоненты, необходимые для производства молока.

Saccharomyces boulardii

В определенных вариантах осуществления, как показано в таблице 5 ниже, композиция содержит *S. boulardii* и/или продукты его жизнедеятельности, причем продукты жизнедеятельности могут непосредственно подавлять метаногены, разрушать метаногенные биопленки и/или снижать концентрацию H_2 в пищеварительной системе домашних животных.

Таблица 5. Иллюстративные продукты жизнедеятельности *S. boulardii* для

уменьшения метаногенеза и содержания H_2

Функция (функции)	Продукт (продукты) жизнедеятельности	Примеры (Продуцируемые <i>S. boulardii</i>)
Подавление метаногенов	Ферменты	Протеиназа К (и/или ее гомолог): может особым образом лизировать псевдомуреин, основной структурный компонент клеточной стенки некоторых архей, включая метаногены.
Уменьшение содержания H_2	Пищеварительные ферменты; Витамины; Органические кислоты	Пищеварительные ферменты, включая сахаразу и изомальтазу: сахароза может катализировать гидролиз сахарозы до фруктозы и глюкозы, в то время как изомальтаза способна переваривать крахмал и другие полисахариды. Водород выделяется из мальабсорбированных сахарозы и крахмала микрофлорой рубца. Витамины группы В и органические кислоты: способны стимулировать ацетогенные микроорганизмы, которые вырабатывают уксусную кислоту из водорода и углекислого газа. Это приводит к снижению доступности водорода для метаногенных микробов для осуществления метаногенеза, а также помогает предотвратить повышение концентрации H_2 при ослаблении метаногенеза.

В одном варианте осуществления изобретения, как показано в Таблице 6 ниже, композиция также содержит продукты жизнедеятельности *S. boulardii*, которые могут улучшать общее состояние здоровья и продуктивность домашних животных, выполняя различные функции, способствующие укреплению здоровья. Таким образом, в некоторых вариантах осуществления *S. boulardii* может служить в качестве пробиотика при введении животному.

Таблица 6. Иллюстративные продукты жизнедеятельности *S. boulardii* для

улучшения здоровья домашних животных

Функция (функции)	Продукт (продукты) жизнедеятельности	Примеры (Продуцируемые <i>S. pleurotus</i>)
Регулирование микрофлоры кишечника	Терпены и терпеноиды; Природные антибиотики; Жирные кислоты; Ферменты	Сесквитерпеноиды и тритерпеноиды: способны уменьшить негативное воздействие патогенов (например, кишечной палочки, холерного вибриона, <i>Clostridium difficile</i> и <i>Salmonella spp.</i>), такое как гастроэнтерит. Природные антибиотики (например, поликетиды, пенициллины, цефалоспорины, валидамицины, карбапанемы и нокардицины): способны подавлять рост патогенных или других вредных кишечных микроорганизмов путем, например, вмешательства в клеточную мембрану патогенного или вредного микроорганизма и/или структуру биопленки. Жирные кислоты, такие как пируват, В-аланин, липоевая кислота, декановая кислота и каприновая кислота: могут подавлять адгезивность и/или образование биопленки <i>Candida albicans</i>. Ферменты, такие как протеаза с молекулярной массой 54 кДа: способны расщеплять <i>кlostридиальные</i> токсины. Пантотенат (витамин B5): способен уменьшить рост бактерий, регулируя врожденный иммунитет и адаптивный иммунитет.
Повышение скорости развития и эффективности пищеварения	Витамины; Органические кислоты; Аминокислоты	Витамины группы В и органические кислоты: способны стимулировать ацетогенные микроорганизмы, которые вырабатывают уксусную

		кислоту, источник углерода, из водорода и углекислого газа. Валин, аминокислота: обеспечивает более полное преобразование источников белка в кормах. Кроме того, улучшенная трансформация корма уменьшает количество азота, выделяемого в отходах, в форме, например, аммиака, тем самым уменьшая количество исходных продуктов NO₂.
Повышение количества и качества вырабатываемого молока у млекопитающих	Фолат/фолиевая кислота	Фолат: может способствовать увеличению выработки молока, например, за счет усиления метаболизма в молочной железе. Кроме того, фолат является важным питательным веществом, например, для роста и развития нервной системы. Таким образом, повышенное содержание фолата в произведенном молоке способствует улучшению питательных качеств молока для кормления детей, тем самым потенциально сокращая время, необходимое для отлучения от груди, и/или увеличивая рост и выживаемость детей.
Повышение иммунитета, средней продолжительности жизни и общего состояния здоровья	Терпены и терпеноиды; Природные антибиотики; Жирные кислоты; Ферменты; Витамины	Сесквитерпеноиды и тритерпеноиды: способны уменьшить негативное воздействие патогенов (например, кишечной палочки, холерного вибриона, <i>Clostridium difficile</i> и <i>Salmonella spp.</i>), такое как гастроэнтерит. Природные антибиотики (например, поликетиды, пенициллины, цефалоспорины, валидамицины, карбапанемы и нокардицины): способны подавлять рост патогенных или других вредных кишечных

		микроорганизмов путем, например, вмешательства в клеточную мембрану патогенного или вредного микроорганизма и/или структуру биопленки. Жирные кислоты, такие как пируват, В-аланин, липоевая кислота, декановая кислота и каприновая кислота: могут подавлять адгезивность и/или образование биопленки <i>Candida albicans</i>. Ферменты, такие как протеаза с молекулярной массой 54 кДа: способны расщеплять <i>кlostридиальные</i> токсины. Пантотенат (витамин В5), вырабатываемый пантотенатсинтетазой: может уменьшить рост бактерий, регулируя врожденный иммунитет и адаптивный иммунитет. Рибофлавин, вырабатываемый рибофлавинсинтазой: способен оказывать антиноцицептивное и противовоспалительное действие на домашних животных. Фолиевая кислота, вырабатываемая многофункциональным ферментом FOL1p: способствует регулированию преобразования энергии, экспрессии генов и продуцирования ДНК, а также является противовоспалительным средством. Убихинон (CoQ10), вырабатываемый в результате биосинтеза убихинона белком CoQ9p: способен улучшать состояние респираторной системы и, как антиоксидант, предотвращать окисление липопротеинов низкой плотности, которое может привести к
--	--	---

		атеросклерозу. Вторичные метаболиты: способствуют уменьшению провоспаленного состояния за счет снижения уровней CD40-, CD80- и CD197 и уменьшения секреции фактора некроза опухоли (TNF)-α и интерлейкина (IL)-6.
--	--	--

Debaryomyces hansenii

В определенных вариантах осуществления, как показано в таблице 7 ниже, композиция содержит *D. hansenii* и/или продукты его жизнедеятельности, причем продукты жизнедеятельности могут непосредственно подавлять метаногены, разрушать метаногенные биопленки и/или снижать концентрацию H₂ в пищеварительной системе домашних животных.

Таблица 7. Иллюстративные продукты жизнедеятельности *D. hansenii* для уменьшения метаногенеза и содержания H₂

Функция (функции)	Продукт (продукты) жизнедеятельности	Примеры (Продуцированные <i>D. hansenii</i>)
Подавление метаногенов	Ферменты; Жирные кислоты; Органические кислоты	Протеиназа К (и/или ее гомолог): может особым образом лизировать псевдомуреин, основной структурный компонент клеточной стенки некоторых архей, включая метаногены. Жирные кислоты со средней цепью, такие как пальмитиновая кислота: могут быть токсичны непосредственно для метаногенов. Выработка жирных кислот усиливается в экстремальных условиях, таких как низкий pH и высокая температура. Пропионовая кислота: может стимулировать ацетогенные микроорганизмы, которые вырабатывают уксусную кислоту из водорода и углекислого газа. Это приводит к снижению доступности

		водорода для метаногенных микроорганизмов, осуществляющих метаногенез.
Разрушение биопленки метаногена	Гликолипидные биологические поверхностно-активные вещества	Гликолипидные био-ПАВ, такие как софоролипиды: могут препятствовать образованию и/или сохранению экзополисахаридной матрицы, которая образует биопленки, тем самым нарушая формирование и/или адгезионную способность биопленки
Уменьшение содержания H_2	Органические кислоты	Органические кислоты, такие как уксусная кислота, пировиноградная кислота, лимонная кислота и муравьиная кислота: способны подавлять метаногенез и уменьшать содержание H_2 . Это приводит к снижению доступности водорода для метаногенных микробов, осуществляющих метаногенез, а также помогает предотвратить повышение концентрации H_2 при ослаблении метаногенеза.

В одном варианте осуществления изобретения, как показано в таблице 8 ниже, композиция также содержит продукты жизнедеятельности *D. hansenii*, которые могут улучшать общее состояние здоровья и продуктивность домашних животных, выполняя различные функции, способствующие укреплению здоровья. Таким образом, в некоторых вариантах осуществления *D. hansenii* может служить в качестве пробиотика при введении животному.

Таблица 8. Иллюстративные продукты жизнедеятельности *D. hansenii* для улучшения здоровья домашних животных

Функция (функции)	Продукт (продукты) жизнедеятельности	Примеры (Продуцированные <i>D. hansenii</i>)
Регулирование микрофлоры кишечника	Альдегиды; Природные антибиотики	Альдегиды, такие как 2-метилпропаналь и 3-метилбутаналь: могут обладать антибактериальной и антиоксидантной активностью. Природные антибиотики, такие как миозин с 22 кДа: могут обладать

		активностью против <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i> , <i>Streptococcus pyogenes</i> , <i>Candida albicans</i> , и <i>Candida neoformans</i> .
Повышение скорости развития и эффективности пищеварения	Гликолипиды; Пищеварительные ферменты; Фосфатидилинозитол; Витамины	Гликолипидные био-ПАВ, такие как софоролипиды: способны улучшать пищеварение, например, путем повышения биодоступности питательных веществ и воды через клетки кишечника/ рубца и улучшения их всасывания в кровоток. Пищеварительные ферменты, такие как амилазы, липазы и протеазы (например, протеаза А, В, D): могут улучшить преобразование корма в мышечную массу за счет улучшения переваривания белков, жиров и углеводов в корме, которые в противном случае могут быть трудными или невозможными для переваривания животными. Фосфатидилинозитол: может повышать чувствительность к инсулину. Эргостерол: может служить источником витамина D, который играет жизненно важную роль в иммунных процессах и процессах роста, а также улучшает реабсорбцию кальция.
Повышение количества и качества вырабатываемого молока у млекопитающих	Фолат/фолиевая кислота;	Фолат: может способствовать увеличению выработки молока, например, за счет усиления метаболизма в молочной железе. Кроме того, фолат является важным питательным веществом, например, для роста и развития нервной системы. Таким образом,

		повышенное содержание фолата в произведенном молоке способствует улучшению питательных качеств молока для кормления детей, тем самым потенциально сокращая время, необходимое для отлучения от груди, и/или увеличивая рост и выживаемость детей.
Повышение иммунитета, средней продолжительности жизни и общего состояния здоровья	Витамины; Амины; Фосфатидилинозитол	Фолиевая кислота: способствует регулированию преобразования энергии, экспрессии генов и продуцирования ДНК, а также является противовоспалительным средством. Рибофлавин: способен оказывать антиноцицептивное и противовоспалительное действие у домашних животных. Эргостерол: может служить источником витамина D, который играет жизненно важную роль в иммунных процессах и процессах роста, а также улучшает реабсорбцию кальция. Амины, такие как спермидин и спермин: могут синхронизировать множество биологических активных веществ (таких как Ca^{2+}, Na^{+}, K^{+} - АТФазы), таким образом поддерживая мембранный потенциал и контролируя внутриклеточный pH и объем. Спермидин является фактором долголетия у млекопитающих благодаря различным механизмам действия. Аутофагия является основным механизмом на молекулярном уровне, но были найдены доказательства других механизмов, включая ослабление

		воспаления, метаболизм липидов и регуляцию роста, пролиферации и гибели клеток. Фосфатидилинозитол: может повысить фертильность, уменьшить окислительный стресс, повысить уровень холестерина ЛПВП и аполипопротеина А-1 в плазме крови и снизить уровень триглицеридов. <i>D. hansenii</i> обладает способностью выживать при стрессах желудочно-кишечного тракта, например, благодаря термоустойчивости, активируемой фосфатидилинозитолом. Он также может прилипать к клеткам Сасо-2 и муцину и индуцировать высокое соотношение IL-10 / IL-12, что оказывает противовос-палительное действие. <i>D. hansenii</i> способен также стимулировать врожденные иммунные и антиоксидантные показатели и экспрессию связанных с иммунитетом сигнальных путей генов.
--	--	--

Другие микроорганизмы

В определенных вариантах осуществления, композиция может содержать один или несколько других микроорганизмов и/или продуктов их жизнедеятельности, которые полезны для уменьшения образования метана и/или улучшения здоровья домашних животных.

В одном варианте осуществления изобретения, композиция содержит живые *Lentinula edodes*, которые способны подавлять активность ГМГ-КоА-редуктазы без образования ловастати́на.

В одном варианте осуществления, композиция включает *Trichoderma viridae* и/или *Acremonium chrysogenum*, которые также вырабатывают статины, подобные ловастати́ну, с потенциалом действия в качестве замедлителей ГМГ-КоА-редуктазы.

В одном варианте осуществления изобретения, композиция содержит красный дрожжевой рис, или кодзи, ферментированный рисовый продукт *Monascus purpureus*.

Красный дрожжевой рис содержит монаколин К, который имеет структуру, сходную с ловастатином, и обладает способностью подавлять активность ГМГ-КоА-редуктазы.

В одном варианте осуществления, композиция содержит дрожжи *Wickerhamomyces anomalus*, которые могут усиливать ацетогенез и утилизацию водорода ацетогенными бактериями в пищеварительной системе жвачных животных, тем самым уменьшая метаногенез и/или вытесняя метаногенные бактерии. Благодаря этому, обеспечивается преимущество, заключающееся в меньшей доступности водорода для метаногенных микроорганизмов, осуществляющих процессы образования метана, без отрицательного воздействия на здоровье пищеварительной системы животного.

Кроме того, *Wickerhamomyces anomalus* вырабатывает фитазу, фермент, полезный для улучшения переваривания и биодоступности фосфора из корма, а также токсины-убийцы (например, экзо- β -1,3-глюканаза), полезные для борьбы с патогенными микроорганизмами.

Кроме того, *Wickerhamomyces anomalus* вырабатывает валин, аминокислоту, которая помогает поддерживать рост и здоровье домашних животных, и позволяет более полно преобразовывать источники белка в кормах, чтобы уменьшить количество азота, выделяемого с их отходами, в форме, например, аммиака.

Дополнительные компоненты

В отдельных вариантах осуществления изобретения, композиция содержит усилитель прорастания для усиления прорастания спорообразующих микроорганизмов, используемых в композиции на основе микроорганизмов. В конкретных вариантах осуществления усилителями прорастания являются аминокислоты, такие как, например, L-аланин и/или L-лейцин. В одном варианте осуществления изобретения, усилителем прорастания является марганец.

В одном варианте осуществления изобретения, композиция содержит одну или несколько жирных кислот. Жирные кислоты могут вырабатываться микроорганизмами композиции и/или вырабатываться отдельно и включаться в качестве дополнительного компонента. В отдельных предпочтительных вариантах осуществления, жирная кислота представляет собой насыщенную длинноцепочечную жирную кислоту, имеющую углеродную цепочку из 14-20 атомов углерода, такую как, например, миристиновая кислота, пальмитиновая кислота или стеариновая кислота. В некоторых вариантах осуществления изобретения, в композицию включена комбинация двух или нескольких насыщенных длинноцепочечных жирных кислот. В некоторых вариантах осуществления, насыщенная длинноцепочечная жирная кислота может подавлять метаногенез и/или повышать проницаемость клеточных мембран для метаногенов.

В некоторых вариантах осуществления, композиция может содержать дополнительные компоненты, которые, как известно, уменьшают содержание метана в пищеварительной системе домашних животных, такие как, например, морские

водоросли (например, *Asparagopsis taxiformis* и/или *Asparagopsis armata*); ламинария; нитрооксипропанола (например, 3-нитрооксипропанол и/или этил-3-нитрооксипропанол); антрахиноны; ионофоры (например, монензин и/или лазалоцид); полифенолы (например, сапонины, танины); экстракт юкки Шидигеры (виды растений, продуцирующие стероидный сапонин); экстракт коры панама-дерева (виды растений, продуцирующие тритерпеноидный сапонин); сероорганические соединения (например, экстракт чеснока); флавоноиды (например, кверцетин, рутин, кемпферол, нарингин и антоцианидины; биофлавоноиды из зеленых цитрусовых, плодов шиповника и черной смородины); карбоновая кислота; и/или терпены (например, d-лимонен, пинен и экстракты цитрусовых).

В особом иллюстративном варианте осуществления, композиция содержит микроорганизм, например, *B. amy*, и 3-нитрооксипропанол (3NOP), органическое соединение, имеющее формулу $\text{HOCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{ONO}_2$. 3 NOP эффективен для подавления одного или нескольких ферментов, участвующих в метаногенезе, например, метилкоэнзим М-редуктазы (Mcr).

Mcr является посредником на заключительном этапе всех путей метаногенеза, при этом CoM (2-меркаптоэтансульфоновая кислота) выступает в качестве важного вспомогательного фактора, служащего переносчиком метильной группы. Mcr восстанавливает метил-CoM до метана. 3 NOP может конкурентно связываться с активным центром Mcr и затем окислять Ni^{1+} , который необходим для активности Mcr. (Patra et al. 2017).

В некоторых вариантах осуществления, введение 3 NOP в заявленную композицию может привести к инактивации или подавлению Mcr и, таким образом, к уменьшению выделения метана домашними животными.

В одном варианте осуществления, заявленная композиция может содержать одно или несколько дополнительных веществ и/или питательных веществ для восполнения пищевых потребностей домашних животных и укрепления здоровья и/или хорошего самочувствия домашних животных, таких как, например, источники аминокислот (включая незаменимые аминокислоты), пептиды, белки, витамины, микроэлементы, жиры, жирные кислоты, липиды, углеводы, стероиды, ферменты и минералы, такие как кальций, магний, фосфор, калий, натрий, хлор, сера, хром, кобальт, медь, йод, железо, марганец, молибден, никель, селен и цинк. В некоторых вариантах осуществления изобретения, микроорганизмы композиции вырабатывают и/или выделяют эти вещества.

В одном варианте осуществления изобретения, композиция может содержать один или более биологических поверхностно-активных веществ. Био-ПАВ - это структурно разнообразная группа поверхностно-активных веществ, вырабатываемых микроорганизмами, которые поддаются биологическому разложению и могут быть эффективно получены с использованием выбранных организмов на возобновляемых

субстратах. Все био-ПАВ являются амфифильными. Они состоят из двух частей: полярной (гидрофильной) части и неполярной (гидрофобной) группы. Обычной липофильной частью молекулы био-ПАВ является углеводородная цепь жирной кислоты, тогда как гидрофильная часть образована сложноэфирными или спиртовыми группами нейтральных липидов, карбоксилатной группой жирных кислот или аминокислот (или пептидов), органической кислотой в случае флаволипидов или, в случае в случае гликолипидов - углеводом.

Благодаря своей амфифильной структуре био-ПАВ увеличивают площадь поверхности гидрофобных нерастворимых в воде веществ, повышают биодоступность таких веществ в воде и изменяют свойства поверхностей бактериальных клеток. Био-ПАВ накапливаются на границах раздела, тем самым уменьшая межфазное натяжение и приводя к образованию агрегированных мицеллярных структур в растворе. Безопасные, эффективные микробные био-ПАВ снижают поверхностное и межфазное натяжение между молекулами жидкостей, твердых веществ и газов. Способность био-ПАВ образовывать поры и дестабилизировать биологические мембраны позволяет использовать их в качестве антибактериальных, противогрибковых и гемолитических средств.

Способность био-ПАВ образовывать поры и дестабилизировать биологические мембраны позволяет использовать их в качестве антибактериальных, противогрибковых и гемолитических средств.

В одном варианте осуществления изобретения, био-ПАВ представляет собой гликолипид. Гликолипиды могут включать, например, софоролипиды, рамнолипиды, липиды целлобиозы, липиды маннозилеритрита и липиды трегалозы. В одном варианте осуществления изобретения, био-ПАВ представляет собой липопептид. Липопептиды могут включать, например, сурфактин, итурин, артрофактин, висконсин, фенгицин и лихенизин. В определенных вариантах осуществления используется смесь био-ПАВ.

В одном варианте осуществления, био-ПАВ очищали от ферментационной среды, в которой их получали. В качестве альтернативы, в одном варианте осуществления био-ПАВ используют в неочищенном виде, содержащем ферментационный бульон, полученный в результате культивирования микроорганизма, вырабатывающего био-ПАВ. Этот раствор био-ПАВ в неочищенном виде может содержать от примерно 0,001% до 99%, от примерно 25% до примерно 75%, от примерно 30% до примерно 70%, от примерно 35% до примерно 65%, от примерно 40% до примерно 60%, от примерно 45% до примерно 55%, или около 50% чистых био-ПАВ, вместе с остаточными клетками и/или питательными веществами.

В одном варианте осуществления, композиция содержит сапонин в количестве от 1 до 10 мл/л или от 2 до 6 мл/л рубцовой жидкости. Сапонины - это природные поверхностно-активные вещества, которые содержатся во многих растениях и проявляют сходные характеристики с микробными био-ПАВ, например, самоассоциация и взаимодействие с биологическими мембранами. Существует три

основные категории сапонинов, включая тритерпеноидные сапонины, стероидные сапонины и стероидные гликоалкалоиды.

Некоторые хорошо известные семейства растений, накапливающие тритерпеноидный сапонин, включают *Leguminosae*, *Amaranthaceae*, *Apiaceae*,
5 *Caryophyllaceae*, *Aquifoliaceae*, *Araliaceae*, *Cucurbitaceae*, *Berberidaceae*,
Chenopodiaceae, *Myrsinaceae* и *Zygophyllaceae*, а также многие другие. Квилляя и бобовые, такие как соя, фасоль и горох, являются богатым источником тритерпеноидных сапонинов. Стероидные сапонины обычно содержатся в семействах *Agavaceae*, *Alliaceae*, *Asparagaceae*, *Dioscoreaceae*, *Liliaceae*, *Amaryllidaceae*,
10 *Bromeliaceae*, *Palmae* и *Scrophulariaceae* и в изобилии накапливаются в культурных растениях, таких как батат, лук, спаржа, пажитник, юкка и женьшень. Стероидные гликоалкалоиды обычно содержатся в представителях семейства пасленовых, включая помидоры, картофель, баклажаны и стручковый перец.

В определенных вариантах осуществления, растительный экстракт, содержащий
15 сапонин, может снижать выработку метана путем изменения pH рубца и/или уменьшения количества простейших симбионтов метаногена.

В одном варианте осуществления, композиция может дополнительно содержать воду. Например, микроорганизм и/или продукты его жизнедеятельности могут быть смешаны с водой и введены домашнему животному. В другом варианте осуществления,
20 композиция может быть смешана с питьевой водой домашних животных в качестве, например, кормовой добавки и/или дополнения. В состав питьевой воды может входить, например, от 1 г/л до примерно 50 г/л композиции на основе микроорганизмов, от примерно 2 г/л до примерно 20 г/л или от примерно 5 г/л до примерно 10 г/л.

25 Благодаря этому, обеспечивается преимущество, заключающееся в том, что композиция может усиливать гидратацию и ослаблять появление и/или тяжесть теплового стресса у домашних животных.

Композиция может быть приготовлена для энтерального и/или парентерального введения в пищеварительную систему домашних животных. Например, композиция
30 может быть приготовлена для перорального введения с кормом, водой и/или с помощью эндоскопии; и/или для введения путем прямой инъекции в одну или несколько частей пищеварительной системы (например, рубец, желудок и/или кишечник), с помощью эндоскопии, с помощью клизмы, с помощью фекальной трансплантации и/или в виде свечей.

35 В определенных вариантах осуществления, композиция может дополнительно содержать один или несколько носителей и/или вспомогательных веществ, пригодных для доставки композиции в пищеварительную систему домашних животных, предпочтительно в рубец, и может быть приготовлена в виде препаратов, например, в твердой, полутвердой, жидкой или газообразной формах, таких как таблетки, капсулы,

прессованные гранулы, порошки, гранулы, мази, гели, лосьоны, растворы, свечи, капли, пластыри, инъекции, ингаляторы и аэрозоли.

Носители и/или вспомогательные вещества согласно настоящему изобретению могут включать любые растворители, разбавители, буферы (такие как, например, забуференный нейтральный физиологический раствор, физиологический раствор с фосфатным буфером или, в некоторых случаях, Трис-HCl, ацетатный или фосфатный буферы, эмульсии "масло в воде" или "вода в масле", водные композиции с включением или без включения органических вспомогательных растворителей, пригодных, например, для внутривенного применения, солюбилизаторы (такие как, например, Твин 80, Полисорбат 80), коллоиды, дисперсионные среды, носители, наполнители, хелатирующие агенты (такие как, например, ЭДТК или глутатион), аминокислоты (такие как, например, глицин), белки, разрыхлители, связующие, смазочные материалы, смачивающие агенты, эмульгаторы, подсластители, красители, ароматизаторы, загустители, покрытия, консерванты (такие как, например, тимеросал, бензиловый спирт), антиоксиданты (такие как, например, аскорбиновая кислота, метабисульфит натрия), агенты, регулирующие тонус, агенты, замедляющие всасывание, вспомогательные вещества, наполнители (такие как, например, лактоза, маннит) и тому подобное. Применение носителей и/или вспомогательных веществ в области лекарственных средств и пищевых добавок достаточно хорошо известно. За исключением любых обычных сред или агентов, которые несовместимы с компонентами заявленных композиций, может быть рассмотрено их использование в заявленных композициях.

В одном иллюстративном варианте осуществления, композиция на основе микроорганизмов может быть приготовлена для прямого введения в пищеварительную систему или ее часть посредством, например, инъекции и/или эндоскопии, например, в виде раствора или суспензии. Раствор или суспензия могут содержать подходящие нетоксичные, энтерально приемлемые разбавители или растворители, такие как маннит, 1,3-бутандиол, вода, раствор Рингера или изотонический раствор хлорида натрия, или подходящие диспергирующие или смачивающие и суспендирующие вещества, такие как стерильные, мягкие, фиксированные масла, включая синтетические моно- или диглицериды, и жирные кислоты, включая олеиновую кислоту. Водные или физиологические растворы, а также водные растворы декстрозы и глицерина могут быть предпочтительно использованы в качестве носителей, в частности, в растворах для энтеральных инъекций.

В одном иллюстративном варианте осуществления, композиция на основе микроорганизмов может быть приготовлена для перорального введения в виде предварительно приготовленного влажного или сухого корма, причем предварительно приготовленный корм готовят и/или обрабатывают, для непосредственного употребления животными. Например, микроорганизмы и/или продукты их жизнедеятельности можно всыпать в предварительно приготовленный корм и/или

смешать с ним, или микроорганизмы и/или продукты их жизнедеятельности могут служить в качестве покрытия на внешней стороне сухого корма для животных, например, кусочков, крошек или гранул.

В одном варианте осуществления, композиция может дополнительно содержать необработанные ингредиенты для приготовления корма для животных, причем необработанные ингредиенты вместе с микроорганизмами и/или продуктами их жизнедеятельности затем готовят и/или обрабатывают для получения обогащенного сухого или влажного кормового продукта. Необработанные ингредиенты могут включать, например, зерна, злаки, грубые корма, фураж, сено, солому, семена, орехи, пожнивные остатки, овощи, фрукты, сушеные растительные вещества и другие ароматизаторы, добавки и/или источники питательных веществ. В одном варианте осуществления, композицию добавляют к необработанным пищевым ингредиентам в концентрации от примерно 0,1% до примерно 50%, от примерно 1% до примерно 25% или от примерно 5% до примерно 15% по массе.

Композицию на основе микроорганизмов можно добавлять во влажный или дневной корм и/или в необработанные кормовые ингредиенты в концентрации, например, от примерно 0,1% до 99%, от примерно 1% до примерно 75% или от примерно 5% до примерно 50% по массе.

В контексте данного изобретения, “сухой корм” относится к пище с ограниченным содержанием влаги, обычно в диапазоне от примерно 5% до примерно 15% или 20% по массе. Как правило, сухие переработанные пищевые продукты выпускаются в виде отдельных кусочков небольшого или среднего размера, например, кусочков, крошек, лакомств, печенья, орешков, кексов или гранул.

Каждый кусочек сухого корма с добавками может содержать постоянную концентрацию композиции на основе микроорганизмов. В другом варианте осуществления, композиция может быть использована в качестве поверхностного покрытия на кусочках сухого корма. Могут быть использованы известные в данной области способы получения сухих переработанных пищевых продуктов, включая измельчение под давлением, экструдирование и/или гранулирование.

В иллюстративном варианте осуществления, сухой корм может быть приготовлен, например, посредством шнекового прессования, которое включает в себя приготовление, формование и нарезку необработанных ингредиентов определенной формы и размера за очень короткий промежуток времени. Ингредиенты можно смешать в однородное эластичное тесто и приготовить в экструдере, а затем пропустить через пресс-форму под давлением и при высокой температуре. После приготовления гранулам дают остыть, а затем, при необходимости, покрывают оболочкой. Это покрытие может содержать, например, жидкий жир или перевар, содержащий жидкие или порошкообразные гидролизованные формы животной ткани, такие как печень или кишки, например, курицы или кролика, и/или растительное масло.

В других вариантах осуществления, гранулу покрывают с применением технологии

вакуумной глазировки, при которой гранулу помещают в вакуум, а затем подвергают воздействию покрывающих материалов, после чего сброс вакуума приводит в движение покрывающие материалы внутри гранулы. Затем можно применяется сушка горячим воздухом для снижения общего содержания влаги до 10% или менее.

В одном варианте осуществления изобретения, сухой корм получают с использованием процесса “холодного” гранулирования или процесса, в котором не используется высокая температура или пар. В способе могут использоваться, например, жидкие связующие вещества с вязкими и когезионными свойствами для удержания ингредиентов вместе без риска денатурирования или разложения важных компонентов и/или питательных веществ в композициях согласно настоящему изобретению.

В одном варианте осуществления, композицию можно наносить на корм для животных или на срезанный и высушенный растительный материал, такой как сено, солома, подстилка, пророщенные зерна, бобовые и/или зерно.

В одном варианте осуществления изобретения, композиция может быть приготовлена в виде высушенного распылением продукта из биомассы. Биомасса может быть выделена известными способами, такими как центрифугирование, фильтрация, разделение, декантация, комбинация разделения и декантации, ультрафильтрации или микрофильтрации.

В одном варианте осуществления, композиция имеет высокое содержание питательных веществ, например, содержит до 50% белка, а также полисахариды, витамины и минералы. В результате композиция может использоваться как часть всей полнорационной композиции корма для животных. В одном варианте осуществления, корм содержит заявленную композицию в диапазоне от 15% корма до 99% корма.

В одном варианте осуществления, заявленная композиция может содержать дополнительные питательные вещества для пополнения рациона животного и/или укрепления здоровья и/или благополучия животного, такие как, например, источники аминокислот (включая незаменимые аминокислоты), пептиды, белки, витамины, микроэлементы, жиры, жирные кислоты, липиды, углеводы, стерины, ферменты, пребиотики и минералы. В некоторых вариантах осуществления изобретения, микроорганизмы композиции вырабатывают и/или выделяют эти вещества.

Предпочтительные композиции включают витамины и/или минералы в любой комбинации. Витамины, используемые в композиции по настоящему изобретению, могут включать, например, витамины А, Е, К3, D3, В1, В3, В6, В12, С, биотин, фолиевую кислоту, пантотеновую кислоту, никотиновую кислоту, хлорид холина, инозитол и парааминобензойную кислоту. Минералы могут включать, например, такие, как кальций, магний, фосфор, калий, натрий, хлор, серу, хром, кобальт, медь, йод, железо, марганец, молибден, никель, селен и цинк. Другие компоненты могут включать, в том числе, антиоксиданты, бета-глюканы, соли желчных кислот, холестерин, ферменты, каротиноиды и многие другие. Классическими витаминами и минералами являются те, которые, например, рекомендуются для ежедневного

употребления и в рекомендуемом суточном количестве (РСК), хотя точные количества могут варьироваться. Композиция предпочтительно должна включать комплекс витаминов, минералов и микроэлементов РСК, а также те питательные вещества, которые не имеют установленного РСК, но оказывают положительное влияние на физиологию здорового млекопитающего.

Получение микроорганизмов и/или продуктов жизнедеятельности микроорганизмов

В заявленном изобретении используются способы культивирования микроорганизмов и получения метаболитов микроорганизмов и/или других продуктов жизнедеятельности микроорганизмов. В заявленном изобретении дополнительно используются способы культивирования, подходящие для культивирования микроорганизмов и получения метаболитов микроорганизмов в желаемом масштабе. Такие способы культивирования включают, в том числе, погружное культивирование/ферментацию, твердофазную ферментацию (ТФ), а также модификации, гибриды и/или их комбинации.

В контексте данного изобретения, “ферментация” относится к культивированию или росту клеток в контролируемых условиях. Рост может быть аэробным или анаэробным. В предпочтительных вариантах изобретения, микроорганизмы выращивают с использованием способа ФТ и/или его модифицированных версий.

В одном варианте осуществления настоящего изобретения предлагаются материалы и способы для получения биомассы (например, жизнеспособного клеточного материала), внеклеточных метаболитов, остаточных питательных веществ и/или внутриклеточных компонентов.

Емкостью для выращивания микроорганизмов, используемым согласно настоящему изобретению, может быть любой биореактор или реактор для культивирования промышленного назначения. В одном варианте осуществления, емкость может иметь функциональные элементы управления/датчики или может быть подключена к функциональным элементам управления/датчикам для измерения важных факторов в процессе культивирования, таких как pH, кислород, давление, температура, влажность, плотность микроорганизмов и/или концентрация метаболитов.

В другом варианте осуществления, емкость также способна отслеживать рост микроорганизмов внутри (например, измерение количества клеток и фаз роста). В другом варианте, возможно взятие суточной пробы из емкости и ее пересчет с использованием методов, известных в данной области, таких как посев методом разбавления.

В одном варианте осуществления, способ включает добавление источника азота к культивированию. Источником азота может быть, например, нитрат калия, нитрат аммония, сульфат аммония, фосфат аммония, аммиак, мочевины и/или хлорид аммония. Такие источники азота могут использоваться независимо или в комбинации из двух или нескольких.

Этот метод может обеспечить насыщение растущей культуры кислородом. В одном варианте осуществления используется медленное движение воздуха для удаления воздуха с низким содержанием кислорода и подачи насыщенного кислородом воздуха. В случае погружной ферментации насыщенный кислородом воздух может
5 быть окружающим воздухом, ежедневно добавляемым с помощью механизмов, включающих лопастные вращающиеся винты для механического перемешивания жидкости и воздушные распылители для подачи пузырьков газа в жидкость для растворения кислорода в жидкости.

Способ может дополнительно предусматривать включение источника углерода в процесс культивирования. Источником углерода обычно является углевод, такой как
10 глюкоза, сахароза, лактоза, фруктоза, трегалоза, манноза, маннит и/или мальтоза; органические кислоты, такие как уксусная кислота, фумаровая кислота, лимонная кислота, пропионовая кислота, яблочная кислота, малоновая кислота и/или пировиноградная кислота; спирты, такие как этанол, пропанол, бутанол, пентанол,
15 гексанол, изобутанол и/или глицерин; жиры и масла, такие как соевое масло, масло канолы, масло рисовых отрубей, оливковое масло, кукурузное масло, кунжутное масло и/или льняное масло; и т.д. Эти источники углерода могут использоваться независимо или в комбинации из двух или нескольких.

В одном варианте осуществления в среду включены факторы роста и
20 микроэлементы для микроорганизмов. Это особенно предпочтительно при выращивании микроорганизмов, которые не способны вырабатывать все необходимые им витамины. В среду также могут быть включены неорганические питательные вещества, включая микроэлементы, такие как железо, цинк, медь, марганец, молибден и/или кобальт. Кроме того, источники витаминов, незаменимых аминокислот и
25 микроэлементов могут включаться, например, в виде муки или шротов, таких как кукурузная мука, или в виде экстрактов, таких как дрожжевой экстракт, картофельный экстракт, говяжий экстракт, соевый экстракт, экстракт банановой кожуры и тому подобное, или в очищенной форме. Также могут включаться аминокислоты, например, такие, которые полезны для биосинтеза белков.

В одном варианте осуществления также возможно включение неорганических солей. Применимыми неорганическими солями могут быть дигидрофосфат калия, дикалийводородфосфат, динатрийводородфосфат, сульфат магния, хлорид магния, сульфат железа, хлорид железа, сульфат марганца, хлорид марганца, сульфат цинка, хлорид свинца, сульфат меди, хлорид кальция, хлорид натрия, карбонат кальция и/или
35 карбонат натрия. Такие неорганические соли могут использоваться независимо или в комбинации из двух или нескольких.

В одном варианте осуществления также возможно включение одного или нескольких биостимуляторов, то есть веществ, которые повышают скорость роста микроорганизма. Биостимуляторы могут быть видоспецифичными или способны
40 повышать скорость роста различных видов.

В некоторых вариантах осуществления способ культивирования может дополнительно включать добавление антимикробного средства в среду до и/или во время процесса культивирования.

В определенных вариантах осуществления антибиотик может добавляться в культуру в низких концентрациях для получения микроорганизмов, устойчивых к антибиотикам. Микроорганизмы, выжившие после воздействия антибиотика, отбираются и повторно культивируются в присутствии все более высоких концентраций антибиотика для получения культуры, устойчивой к антибиотикам. Это может происходить в лабораторных условиях или в промышленных масштабах с использованием методов, известных в области микробиологии. В определенных вариантах осуществления, количество антибиотика в культуре начинается, например, с 0,0001 частей на млн и увеличивается примерно на 0,001-0,1 частей на млн с каждой итерацией, пока концентрация в культуре не станет равной или приблизительно равной дозировке, обычно используемой для домашних животных.

В определенных вариантах осуществления, под антибиотиками подразумеваются те, которые часто используются в кормах для домашних животных для стимулирования роста, а также для лечения и профилактики болезней и инфекций у животных, такие как, например, прокаин, пенициллин, тетрациклин (хлортетрациклин, окситетрациклин), тайлозин, бацитрациклин, неомидин сульфат, стрептомицин, эритромицин, моненсин, роксарсон, салиномицин, тайлозин, линкомицин, карбадокс, лаидломицин, ласалогид, олеандомицин, виргинамицин и бамбермицин. При выращивании полезных микроорганизмов, устойчивых к определенному антибиотику для домашних животных, возможен выбор микроорганизмов на основе того, какой антибиотик может вводиться животному для лечения или профилактики заболевания. В другом варианте антибиотик может выбираться для домашних животных с учетом того, какой полезный микроорганизм вводится животному в соответствии с рассматриваемыми способами, чтобы не нанести вред полезному микроорганизму.

pH смеси должен подходить для рассматриваемого микроорганизма. Буферы и регуляторы pH, такие как карбонаты и фосфаты, могут быть использованы для стабилизации pH до предпочтительного значения. Когда ионы металлов присутствуют в высоких концентрациях, может потребоваться использование хелатирующего агента в среде.

Микроорганизмы могут выращиваться в планктонной форме или в виде биопленки. При выращивании биопленки, внутри емкости может находиться субстрат, на котором культивируются микроорганизмы в форме биопленки. В системе также возможно, например, применять стимулы (такие как механическое раздражение), которые побуждают рост биопленки и/или улучшают его характеристики.

В одном варианте осуществления, способ культивирования микроорганизмов предусматривает температуру примерно от 5° до примерно 100°C, предпочтительно, от 15 до 60°C, более предпочтительно, от 25 до 50°C. В другом варианте культивирование

может осуществляться непрерывно при постоянной температуре. В другом варианте культивирование может происходить с изменением температуры.

В одном варианте осуществления оборудование, используемое в способе и процессе культивирования, является стерильным. Оборудование для культивирования, такое как реактор/емкость, может быть обособлено от стерилизующего устройства, например, автоклава, но подключаться к нему. Оборудование для культивирования может также иметь стерилизующий блок, который стерилизует на месте перед началом инокуляции. Воздух может стерилизоваться известными в данной области способами. Например, окружающий воздух до попадания в емкость может проходить, по меньшей мере, через один фильтр. В других вариантах осуществления, среда может быть пастеризованной или, в некоторых случаях, вообще без добавления тепла, где использование низкой активности воды и низкого pH может использоваться для контроля нежелательного роста бактерий.

В одном варианте осуществления, заявленное изобретение дополнительно предоставляет способ получения метаболитов микроорганизмов, таких как, например, био-ПАВ, ферменты, белки, этанол, молочная кислота, бета-глюкан, пептиды, метаболитические промежуточные продукты, полиненасыщенные жирные кислоты и липиды, путем культивирования штамма микроорганизма в соответствии с настоящим изобретением в условиях, подходящих для роста и образования метаболитов; и, в некоторых случаях, очистки метаболита. Содержание метаболитов, полученных данным способом, может составлять, например, по меньшей мере 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, или 90%.

Содержание биомассы в ферментационной среде может составлять, например, от 5 г/л до 180 г/л или более, или от 10 г/л до 150 г/л. Концентрация клеток может составлять, например, по меньшей мере 1×10^9 , 1×10^{10} , 1×10^{11} , 1×10^{12} or 1×10^{13} клеток на грамм конечного продукта.

Продукт жизнедеятельности микроорганизмов, вырабатываемый представляющими интерес микроорганизмами, может удерживаться в микроорганизмах или выделяться в питательную среду. Среда может содержать соединения, стабилизирующие активность продукта жизнедеятельности микроорганизмов.

Оборудование и способ для культивирования микроорганизмов и получения продуктов жизнедеятельности микроорганизмов могут выполняться в периодическом режиме, в квазинепрерывном процессе или в непрерывном процессе.

В одном варианте осуществления, вся композиция для культивирования микроорганизмов удаляется по завершении культивирования (например, при достижении, желаемой плотности клеток или плотности указанного метаболита). При этом периодическом процессе после сбора первой порции создается совершенно новая порция.

В другом варианте осуществления изобретения, в любой момент времени удаляется только часть продукта ферментации. В этом варианте осуществления, биомасса с жизнеспособными клетками, спорами, конидиями, гифами и/или мицелием остается в емкости в качестве посевного материала для новой порции культивирования.

- 5 Удаляемая композиция может представлять собой бесклеточную среду или содержать клетки, споры или другие репродуктивные поросли и/или их комбинацию. Таким образом, создается квазинепрерывная система.

Благодаря этому, обеспечивается преимущество, заключающееся в том, что способ не требует сложного оборудования или высокого энергопотребления.

- 10 Представляющие интерес микроорганизмы могут культивироваться в малых или крупных масштабах на месте и утилизироваться, даже будучи еще смешанными с их средой.

Получение продуктов на основе микроорганизмов

- 15 “Продукт на основе микроорганизмов” - это продукт, который должен применяться на практике для достижения желаемого результата. Продукт на основе микроорганизмов может быть просто композицией на основе микроорганизмов, полученной в процессе их культивирования. В другом варианте, продукт на основе микроорганизмов может содержать дополнительные ингредиенты, которые были
- 20 добавлены. Такие дополнительные ингредиенты могут включать, например, стабилизаторы, буферы, носители (например, водные или солевые растворы), питательные вещества, добавляемые для содействия дальнейшему росту микроорганизмов, усилители роста, не содержащие питательных веществ, и/или агенты, которые облегчают отслеживание микроорганизмов и/или композиции в среде,
- 25 в которую они вводятся. Продукт на основе микроорганизмов может также содержать смеси композиций на основе микроорганизмов. Продукт на основе микроорганизмов может также содержать один или более компонентов композиции на основе микроорганизмов, обработанных каким-либо способом, таким как, в том числе, фильтрация, центрифугирование, расщепление, сушка, очистка и т.п.

- 30 Одним продуктом на основе микроорганизмов, в соответствии с настоящим изобретением, попросту является ферментационная среда, содержащая микроорганизм и/или метаболиты микроорганизмов, вырабатываемые микроорганизмом, и/или любые остаточные питательные вещества. Продукт ферментации может использоваться непосредственно без экстракции или очистки. При желании экстракция и очистка могут
- 35 происходить легко с использованием стандартных способов экстракции и/или очистки или техник, описанных в литературе.

Микроорганизмы в продукте на основе микроорганизмов могут находиться в активной или неактивной форме.

- 40 Кроме того, микроорганизмы могут быть удалены из композиции, а остаточная культура утилизирована. Продукты на основе микроорганизмов могут использоваться

без дополнительной стабилизации, консервации и хранения. Благодаря этому, обеспечивается преимущество, заключающееся в том, что прямое использование этих продуктов на основе микроорганизмов сохраняет высокую жизнеспособность микроорганизмов, уменьшает возможность загрязнения чужеродными агентами и
5 нежелательными микроорганизмами и поддерживает активность продуктов жизнедеятельности микроорганизмов.

Микроорганизмы и/или среда (например, питательная среда или твердый субстрат), образующиеся в результате роста микроорганизмов, могут удаляться из емкости для культивирования и передаваться, например, по трубам для немедленного
10 использования.

В одном варианте осуществления, продукт на основе микроорганизмов представляет собой просто продукты жизнедеятельности микроорганизма. Например, био-ПАВ, вырабатываемые микроорганизмом, могут собираться в неочищенном виде из погружаемой ферментационной емкости, содержащей, например, около 50% чистого
15 био-ПАВ в жидкой питательной среде.

В других вариантах осуществления, продукт на основе микроорганизмов (микроорганизмы, среда, или микроорганизмы и среда) может содержаться в контейнерах соответствующего размера, с учетом, например, предполагаемого использования, предполагаемого способа применения, размера емкости для
20 ферментации и любого способа транспортировки от установки для выращивания микроорганизмов до места использования. Таким образом, емкости, в которые помещают композицию на основе микроорганизмов, могут содержать, например, от 1 галлона до 1000 галлонов или более. В других вариантах осуществления, контейнеры имеют объем 2 галлона, 5 галлонов, 25 галлонов или больше.

После сбора, например, продукта дрожжевого брожения из емкостей для культивирования, могут добавляться дополнительные компоненты по мере того, как собранный продукт помещается в контейнеры и/или подается по трубам (или иным образом транспортируется для использования). Добавками могут быть, например, буферы, носители, другие композиции на основе микроорганизмов, произведенные на
30 том же или другом комбинате, модификаторы вязкости, консерванты, питательные вещества для роста микроорганизмов, отслеживающие агенты, растворители, биоциды, другие микроорганизмы и другие ингредиенты, специфичные для предполагаемого использования.

Другие подходящие добавки, которые могут содержаться в рецептурах в соответствии с изобретением, включают вещества, которые обычно используются для
35 таких препаратов. Примеры таких добавок включают поверхностно-активные вещества, эмульгирующие агенты, смазочные материалы, буферные агенты, агенты, контролирующие растворимость, агенты, регулирующие pH, консерванты, стабилизаторы и агенты, устойчивые к ультрафиолетовому излучению.

В одном варианте осуществления, продукт может дополнительно содержать буферные агенты, включающие органические и аминокислоты или их соли. Подходящие буферы включают цитрат, глюконат, тартарат, малат, ацетат, лактат, оксалат, аспартат, малонат, глюкогептонат, пируват, галактарат, глюкарат, тартронат, глутамат, глицин, лизин, глутамин, метионин, цистеин, аргинин и их смесь. Также могут использоваться фосфорная и фосфорнокислые кислоты или их соли. Синтетические буферы подходят для использования, но предпочтительнее использовать натуральные буферы, такие как органические кислоты и аминокислоты или их соли, перечисленные выше.

В другом варианте осуществления агенты, регулирующие pH, включают гидроксид калия, гидроксид аммония, карбонат или бикарбонат калия, соляную кислоту, азотную кислоту, серную кислоту или смесь.

В одном варианте осуществления, в состав могут вводиться дополнительные компоненты, такие как водный препарат соли, такой как бикарбонат или карбонатная кислота натрия, сульфат натрия, фосфат натрия или бифосфат натрия.

Благодаря этому, обеспечивается преимущество, заключающееся в том, что, в соответствии с заявленным изобретением, продукт на основе микроорганизмов может содержать питательную среду, в которой были выращены микроорганизмы. Продуктом может быть, например, по меньшей мере, по весу, 1%, 5%, 10%, 25%, 50%, 75%, или 100%-ная питательная среда. Количество биомассы в продукте, по массе, может составлять, например, где-то от 0% до 100%, включая все процентные соотношения между ними.

В некоторых случаях продукт можно хранить перед использованием. Предпочтительно, чтобы время хранения было коротким. Таким образом, время хранения может составлять менее 60 дней, 45 дней, 30 дней, 20 дней, 15 дней, 10 дней, 7 дней, 5 дней, 3 дня, 2 дня, 1 дня или 12 часов. В предпочтительном варианте осуществления, если в продукте присутствуют живые клетки, то его хранят при небольшой температуре, такой как, например, менее 20°C, 15°C, 10°C или 5°C. С другой стороны, композиция био-ПАВ обычно может храниться при температуре окружающей среды.

Получение продуктов на основе микроорганизмов вблизи места их применения

В определенных вариантах осуществления настоящего изобретения, аппарат для выращивания микробов вырабатывает свежие микроорганизмы с высокой плотностью и/или представляющие интерес продукты жизнедеятельности микроорганизмов в желаемом масштабе. Аппарат для культивирования микроорганизмов может располагаться на месте их непосредственного применения или поблизости. Аппарат генерирует композиции на основе микроорганизмов высокой плотности при периодическом, квазинепрерывном или непрерывном культивировании.

Согласно настоящему изобретению, аппараты для культивирования микроорганизмов могут располагаться непосредственно в том месте, где будет использоваться продукт на основе микроорганизмов (например, пастбище для крупного рогатого скота на свободном выгуле). Например, аппарат для культивирования микроорганизмов может располагаться на расстоянии меньше, чем 300, 250, 200, 150, 100, 75, 50, 25, 15, 10, 5, 3, или в 1 миле от места использования.

Поскольку продукт на основе микроорганизмов может вырабатываться локально, не прибегая к процессам стабилизации микроорганизмов, консервации, хранения и транспортировки традиционного производства микроорганизмов, возможно генерирование микроорганизмов с гораздо более высокой плотностью, что требует меньшего объема продукта на основе микроорганизмов для применения на месте или позволяет применять микроорганизмы с гораздо более высокой плотностью, где это необходимо для достижения желаемой эффективности. Это позволяет использовать биореактор меньшего размера (например, меньшую емкость для ферментации, меньшие запасы закваски, питательных веществ и средств контроля pH), что делает систему эффективной и устраняет необходимость стабилизации клеток или отделения их от среды культивирования. Генерирование продукта на основе микроорганизмов непосредственно на месте также облегчает ввод питательной среды в продукт. Среда может содержать вещества, образующиеся в процессе ферментации, которые особенно хорошо подходят для местного применения.

Устойчивые культуры с высокой плотностью микроорганизмов местного происхождения более эффективны в полевых условиях, чем те, которые остаются в цепочке поставок в течение некоторого времени. Продукты на основе микроорганизмов заявленного изобретения обеспечивают особые преимущества по сравнению с традиционными продуктами, в которых клетки отделяются от метаболитов и питательных веществ, присутствующих в среде для ферментации. Сокращение времени транспортировки позволяет получать и поставлять свежие порции микроорганизмов и/или их метаболитов в то время и в том объеме, которые соответствуют местному спросу.

Аппараты для выращивания микроорганизмов по заявленному изобретению производят свежие композиции на основе микроорганизмов, содержащие сами микроорганизмы, метаболиты микроорганизмов и/или другие компоненты среды, в которой выращивают микроорганизмы. В случае необходимости, композиции могут иметь высокую плотность вегетативных клеток или поросли, или смесь вегетативных клеток и поросли.

В одном варианте осуществления, аппарат для выращивания микроорганизмов располагается на участке, где будут использоваться продукты на основе микроорганизмов, или рядом с ним (например, животноводческий комплекс), предпочтительно в пределах 300 миль, более предпочтительно в пределах 200 миль, еще более предпочтительно в пределах 100 миль. Благодаря этому, обеспечивается

преимущество, заключающееся в том, что таким образом, возможно создание композиций, адаптированных для использования в определенном месте. Формула и потенциальные возможности композиций на основе микроорганизмов могут адаптироваться к конкретным местным условиям при применении, например, к тому, какой вид животных подвергается обработке; в какой сезон, климат и/или время года применяется композиция; и какой способ и/или доза введения используются.

Предпочтительно, рассредоточенные аппараты для выращивания микроорганизмов обеспечивают решение текущей проблемы зависимости от крупных промышленных производителей, качество продукции которых страдает из-за задержек в первичной обработке, узких мест в цепочке поставок, неправильного хранения и других непредвиденных обстоятельств, которые препятствуют своевременной доставке и применению, например, жизнеспособного продукта с высоким содержанием клеток и связанной с ним среды и метаболитов, в которых первоначально выращиваются клетки.

Кроме того, при производстве композиции локально состав и эффективность могут быть скорректированы в режиме реального времени в зависимости от конкретного местоположения и обстоятельств, существующих во время нанесения. Это обеспечивает преимущества по сравнению с композициями, которые предварительно изготавливаются в централизованном месте и предусматривают, например, установленные пропорции и рецептуры, которые могут не подходить для конкретной местности.

Аппараты для выращивания микроорганизмов обеспечивают гибкость производства за счет их способности адаптировать продукты на основе микроорганизмов для улучшения синергии с конечными регионами потребления. Обеспечивается преимущество, заключающееся в том, что, что в предпочтительных вариантах осуществления, системы по заявленному изобретению используют возможности местных микроорганизмов, встречающихся в природе, и их побочных продуктов метаболизма для повышения эффективности управления выбросами парниковых газов.

Продолжительность культивирования в отдельных емкостях может составлять, например, от 1 до 7 дней или более. Продукт культивирования может собираться любым из возможных способов.

При производстве на месте и доставке в течение, например, 24 часов после ферментации получают чистые композиции с высокой плотностью клеток и существенно меньшими затратами на доставку. Учитывая перспективы стремительного прогресса в разработке более эффективных и мощных инокулянтов микроорганизмов, потребители существенно выиграют от этой возможности быстрой доставки продуктов на основе бактерий.

Способы сокращения выбросов парниковых газов

В предпочтительных вариантах осуществления, заявленное изобретение предоставляет способ сокращения выбросов вредных атмосферных газов путем уменьшения метана, углекислого газа и/или других вредных атмосферных газов и/или их исходных продуктов (например, азота и/или аммиака, которые являются предшественниками закиси азота), образующихся в пищеварительной системе и/или и/или продуктах жизнедеятельности домашних животных.

«Домашние» животные в контексте данного изобретения представляют собой «одомашненных» животных, что означает виды, которые подвергались влиянию, разводились, приручались и/или контролировались людьми на протяжении многих поколений, так что между животным и человеком существуют мутуалистические отношения. В частности, к домашним животным относятся животные, выращенные в сельскохозяйственных или промышленных условиях для получения таких товаров, как продукты питания, волокно и тяговая сила. Виды животных, подпадающие под термин «домашние», могут включать, но не ограничиваются, альпак, лам, свиней (поросят), лошадей, мулов, ослов, верблюдов, собак, жвачных животных, кур, индеек, уток, гусей, цесарок и кабанов.

В определенных вариантах осуществления изобретения, домашними животными являются «жвачные животные» или млекопитающие, имеющие разделенный на секции желудок, пригодный для ферментации растительных продуктов перед перевариванием с помощью специфического кишечного микробиома. К жвачным животным относятся, например, крупный рогатый скот, овцы, козы, горные козлы, жирафы, олени, лоси, карибу, северные олени, антилопы, газели, импалы, антилопы гну и некоторые кенгуру.

В особых иллюстративных вариантах осуществления, домашние животные представляют собой крупный рогатый скот, который относится к жвачным животным, принадлежащим к подсемейству Bovinae, семейства Bovidae. Крупный рогатый скот может включать одомашненные и/или дикие виды. Особые примеры включают, но не ограничиваются, водяного буйвола, аноа, тамароу, зубра, бантенга, гуара, гайала, яка, купрея, домашний мясной и молочный скот (например, *Bos taurus*, *Bos indicus*), быка, вола, зебу, саола, бизона, буйвола, зубра, бонго, куду, кеввел, имбабала, куду, ньяла, ситатунга и эланд.

В некоторых особых вариантах осуществления, в соответствии с заявленным изобретением, способы включают контакт композиции на основе микроорганизмов с пищеварительной системой домашнего животного. Композицию можно вводить энтерально и/или парентерально, например, в пищеварительную систему домашнего животного. Например, композицию можно вводить домашнему животному перорально, с кормом для домашних животных, пастбищным кормом и/или питьевой водой; с помощью эндоскопии; путем прямой инъекции, например, в рубец, желудок и/или кишечник; с помощью свечек; с помощью фекальной трансплантации; и/или с помощью клизмы.

В определенных вариантах осуществления, композицию также можно вводить непосредственно в отходы для сокращения выбросов парниковых газов.

В качестве преимущества, в предпочтительных вариантах осуществления способы приводят к уменьшению количества метаногенных бактерий и/или простейших, присутствующих в пищеварительной системе и/или отходах домашних животных. В определенных вариантах осуществления, способы также могут привести к уменьшению содержания метана, углекислого газа, других вредных атмосферных газов и/или их исходных веществ, таких как азот и/или аммиак (предшественники закиси азота), в пищеварительной системе и/или отходах домашних животных.

В контексте данного изобретения, “уменьшение” означает отрицательное изменение по меньшей мере 0.25%, 0.5%, 1%, 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, или 100%.

В некоторых вариантах осуществления, требуемое уменьшение достигается в течение относительно короткого периода времени, например, в течение 1 недели, 2 недель, 3 недель или 4 недель после поглощения композиции животными. В некоторых вариантах осуществления, требуемое уменьшение достигается в течение, например, 1 месяца, 2 месяцев, 3 месяцев, 4 месяцев, 5 месяцев или 6 месяцев после применения заявленных способов. В некоторых вариантах осуществления, требуемое уменьшение достигается в течение 1 года, 2 лет, 3 лет, 4 лет или 5 лет после применения заявленных способов.

В некоторых вариантах осуществления, способы могут дополнительно включать добавление материалов для усиления роста микроорганизмов заявленной композиции при ее использовании (например, добавление питательных веществ и/или пребиотиков). В одном варианте осуществления, источники питательных веществ могут включать, например, источники магния, фосфата, азота, калия, селена, кальция, серы, железа, меди, цинка, белков, витаминов и/или углерода. В определенных вариантах осуществления, домашнему животному можно давать источник пребиотиков, который может содержаться, например, в сухом корме для животных, соломе, сене, люцерне, зерне, фураже, траве, фруктах, овощах, овсе и/или пожнивных остатках.

В некоторых вариантах осуществления, перед употреблением композиции, способ включает оценку местных условий разведения домашних животных, стада домашних животных или места хранения отходов животноводства, определение предпочтительной рецептуры композиции (например, типа, комбинации и/или соотношения микроорганизмов и/или продуктов жизнедеятельности), которая адаптирована к местным условиям, и изготовление композиции с указанной предпочтительной рецептурой.

Местные условия могут включать, например, возраст, состояние здоровья, размер и вид животного (животных); численность стада; цель разведения животного (например, мясо, мех, клетчатка, тяговая сила, молоко и т.д.); виды микроорганизмов

в микрофлоре кишечника животного и/или отходах; условия окружающей среды, такие как количество и тип выбросов парниковых газов; климатические условия в настоящее время и/или сезон/время года; способ и/или норма применения композиции и другие параметры, которые считаются значимыми.

После оценки можно определить предпочтительную рецептуру композиции, чтобы адаптировать композицию к конкретным местным условиям. Затем композицию культивируют, предпочтительно в аппарате для выращивания микроорганизмов, который находится в пределах 300 миль, предпочтительно в пределах 200 миль, еще более предпочтительно в пределах 100 миль от места применения (например, на животноводческом комплексе или в отстойнике).

В некоторых вариантах осуществления, местные условия оцениваются периодически, например, один раз в год, раз в два года или даже ежемесячно. Таким образом, рецептура композиции может изменяться в режиме реального времени по мере необходимости в соответствии с требованиями меняющихся местных условий.

В иллюстративном варианте осуществления, суточная доза композиции, вводимая каждому животному, составляет примерно от 5 мг до примерно 100 грамм, или примерно от 10 мг до примерно 50 грамм, или примерно от 15 мг до примерно 25 грамм, или примерно от 20 мг до примерно 20 грамм, или примерно от 25 мг до примерно 10 грамм, или примерно от 30 мг до 5 граммов на 100 кг массы тела животного.

В определенных вариантах осуществления, способы включают введение композиции в питьевую воду и/или корм в качестве пищевой добавки, причем пищевая добавка может иметь любую подходящую форму, такую как подливка, питьевая вода, напиток, йогурт, порошок, гранулы, паста, суспензия, жевательная резинка, кусочки, жидкий раствор, лакомство, перекус, гранула, пилюля, капсула, драже, пакетик или любая другая подходящая форма доставки. Пищевая добавка может содержать рассматриваемые композиции на основе микроорганизмов, а также дополнительные вещества, такие как витамины, минералы, пробиотики, пребиотики и антиоксиданты. В некоторых вариантах осуществления, пищевая добавка может быть смешана с композицией корма или с водой, или другим разбавителем перед введением животному.

В некоторых вариантах осуществления, композицию распыляют на поле для выпаса домашних животных или пастбище, а также вводят в питьевую воду и/или корм.

Согласно способам заявленного изобретения, введение композиций на основе микроорганизмов может осуществляться как часть диетического режима с охватом периода, начиная с родов и заканчивая взрослой жизнью животного. В определенных вариантах осуществления животное представлено молодым или растущим животным. В некоторых вариантах осуществления, предполагается стареющее животное. В других вариантах осуществления введение начинается, например, на регулярной или

продолжительной регулярной основе, когда животное достигло более чем приблизительно 30%, 40%, 50%, 60%, или 80% от его прогнозируемой или ожидаемой продолжительности жизни.

В некоторых вариантах осуществления, способы по заявленному изобретению могут использоваться животноводом или переработчиком отходов для сокращения использования углеродных квот. Таким образом, в определенных вариантах осуществления, заявленные способы могут дополнительно включать проведение измерений для оценки влияния способа на уменьшение образования углекислого газа и/или других вредных атмосферных газов и/или их исходных веществ (например, азота и/или аммиака), и/или для оценки воздействия способа на контроль метаногенов в пищеварительной системе и/или отходах домашних животных, используя стандартные методы в данной области.

Эти измерения могут проводиться в соответствии с известными в данной области методами (см., например, Storm et al. 2012, приведенное здесь в качестве ссылки), включая, например, улавливание и количественную оценку газа, хроматографию, дыхательные камеры (которые измеряют количество метана, выдыхаемого отдельным животным, и технологию получения газа в пробирке (где сырье ферментируется в контролируемых лабораторных и микробиологических условиях для определения количества метана и /или закиси азота, выделяющегося на грамм сухого вещества). Измерения могут также проводиться в форме анализа популяции микроорганизмов у животного, например, путем отбора проб молока, фекалий и/или содержимого желудка и использования, например, секвенирования ДНК и/или посева клеток для определения количества присутствующих в них метаногенных микроорганизмов.

В некоторых вариантах осуществления, измерения проводят примерно через 1 неделю или меньше, 2 недели или меньше, 3 недели или меньше, 4 недели или меньше, 30 дней или меньше, 60 дней или меньше, 90 дней или меньше, 120 дней или меньше, 180 дней или меньше и/или 1 год или меньше.

Кроме того, измерения могут повторяться с течением времени. В некоторых вариантах осуществления, измерения повторяются ежедневно, еженедельно, ежемесячно, раз в два месяца, раз в полгода, раз в полгода и/или ежегодно.

Переработка отходов животноводства

В некоторых особых вариантах осуществления по заявленному изобретению, композицию вводят непосредственно в навозонакопитель, сбросный пруд, хранилище жидких отходов, резервуар или другой объект, где хранятся и/или обрабатываются отходы животноводства и/или пищевой промышленности.

В некоторых вариантах осуществления микроорганизмы в композиции, например, *B. ату*, обеспечивают преимущество, состоящее в усилении разложения навоза при одновременном снижении количества выделяющихся из него парниковых

газов, например, метана, углекислого газа и/или закиси азота. Кроме того, в некоторых вариантах осуществления, введение композиции в навоз повышает ценность навоза в качестве органического удобрения благодаря способности микроорганизмов инокулировать почву поля или выращиваемой культуры, в которую в конечном итоге вносится навоз. Микроорганизмы и продукты их жизнедеятельности способствуют улучшению биологического разнообразия почвы, улучшению свойств ризосферы, а также росту и здоровью растений, что может привести, например, к снижению потребности в богатых азотом синтетических удобрениях.

В некоторых вариантах осуществления отстойник или сбросный пруд содержит другие побочные продукты переработки отходов животного происхождения и/или пищевой промышленности, например, отходы переработки пальмового масла (например, сточные воды завода по производству пальмового масла), отходы переработки оливкового масла (например, жмых из оливкового масла и сточные воды маслобойни), отходы переработки молочных продуктов (например, кисломолочная сыворотка) и отходы скотобойни (например, остатки туш домашних животных). Такие отходы с высоким содержанием жира загрязняют окружающую среду и создают неприятный запах, а также могут образовывать полутвердые жировые слои поверх сточных вод, что способствует росту микроорганизмов, продуцирующих ПГ.

В определенных вариантах осуществления, микроорганизмы заявленных композиций могут способствовать метаболизму жирового слоя и увеличению скорости разложения, в дополнение к возможности уменьшения выбросов парниковых газов, как описано ранее.

В определенных вариантах осуществления, способ включает добавление в композицию био-ПАВ, например, рамнолипида и/или софоролипида, которые способствуют расщеплению жиров и усиливают контроль над микроорганизмами, вырабатывающими ПГ.

ПРИМЕРЫ

Более глубокое понимание настоящего изобретения и его многочисленных преимуществ можно получить из следующих примеров, приведенных для наглядности. Следующие примеры демонстрируют некоторые способы, области применения, варианты осуществления настоящего изобретения. Они не должны рассматриваться как ограничивающие изобретение. В изобретение могут вноситься многочисленные изменения и доработки.

ПРИМЕР 1 – ТЕСТИРОВАНИЕ В ПРОБИРКЕ

Композиции, в соответствии с вариантами осуществления заявленного изобретения, проверяли на их способность уменьшать выбросы кишечного метана и углекислого газа крупным рогатым скотом. Двадцать четыре сосуда заполняли жидкостью из рубца крупного рогатого скота, искусственной слюной, 1 г сухих

веществ из рубца, 1 г основного рациона и 1% по объему обрабатывающей композиции. Трижды проводили по восемь обработок, включая одну контрольную также проведенную три раза.

5 Обработка включала:

0 – Контрольная

1 – *B. amy*

2 – *P. ostreatus*

3 – *S. boulardii*

10 4 – *B. amy* + *P. ostreatus*

5 – *B. amy* + *S. boulardii*

6 – *P. ostreatus* + *S. boulardii*

7 – *B. amy* + *P. ostreatus* + *S. boulardii*

15 Через 24 часа измеряли количество метана, углекислого газа и общие объемы газа (мл/гДМ), собранные из каждого сосуда.

ФИГ. 2 представляет результаты по метану. Обработка №1, включающая *B. amy*, показала уменьшение среднего содержания метана на 78% ($p = 0,05$) по сравнению с контрольной. Обработка №6, включающая *S. boulardii* и *P. ostreatus*, показала снижение среднего содержания метана на 69% ($p = 0,03$) по сравнению с контрольной.

20 **ФИГ. 3** представляет результаты по уменьшению содержания углекислого газа. Обработка №1, включающая *B. amy*, показала максимальное уменьшение среднего содержания углекислого газа по сравнению с контрольной, а обработка №6, включающая *S. boulardii* и *P. ostreatus*, показала следующее максимальное снижение.

25 ПРИМЕР 2 – ДОПОЛНИТЕЛЬНОЕ ТЕСТИРОВАНИЕ В ПРОБИРКЕ

Способность уменьшать выбросы кишечного метана и углекислого газа у крупного рогатого скота была проверена на обработке № 1 из примера 1 выше, содержащей *B. amy*, при этом компоненты вводились в разных дозах. Каждая из пяти разных доз введения проводилась 8 раз в отдельных сосудах (всего 40 сосудов). В 30 сосудах содержалась рубцовая жидкость, искусственная слюна, 1 г сухих веществ рубца, 1 г основного рациона и изменяемая доза обработки №1. Изменяемая доза составляла: 0% (контрольная), 0.1%, 0.2%, 0.5% и 1%.

Через двадцать четыре часа после начала ферментации рубца в пробирке измеряли содержание метана, углекислого газа и общих объемов газа (мл/г/дм), 35 собранных из каждого сосуда.

ФИГ. 4 представляет результаты по метану. Обработка, включающая дозу введения *B. amy* 0,2%, показала максимальное уменьшение выбросов CH_4 . (* указывает на значительное уменьшение $p = 0.0174$).

ФИГ. 5 представляет результаты по углекислому газу. Обработка, при которой доза введения *B. amy* составляла 0,2%, показала максимальное уменьшение выбросов CO₂. (* указывает на значительное уменьшение, $p = 0.0491$).

5 ПРИМЕР 3 – ПРОДУКТ *B. AMY*

Один продукт на основе микроорганизмов по заявленному изобретению содержит *B. amy*. Инокулят *B. amy* выращивают в малогабаритном реакторе в течение 24-48 часов. Инокулят *Mucosoccus xanthus* выращивают в колбе для посевной культуры с рабочим объемом 2 л в течение 48-120 часов. Ферментационный реактор засевают двумя инокулятами. Питательная среда непрерывно подается в ферментационный реактор из загрузочного бака. Питательная среда содержит:

Глюкозу	от 1 г/л до 5 г/л
Казеиновый пептон	от 1 г/л до 10 г/л
K ₂ HPO ₄	от 0,01 г/л до 1,0 г/л
KH ₂ PO ₄	от 0,01 г/л до 1,0 г/л
MgSO ₄ ·7H ₂ O	от 0,01 г/л до 1,0 г/л
NaCl	от 0,01 г/л до 1,0 г/л
CaCO ₃	от 0,5 г/л до 5 г/л
Ca(NO ₃) ₂	от 0,01 г/л до 1,0 г/л
Дрожжевой экстракт	от 0,01 г/л до 5 г/л
MnCl ₂ ·4H ₂ O	от 0,001 г/л до 0,5 г/л
Микроэлемент Текнова	от 0,5 г/л до 5 г/л

Закрепляющий носитель в виде мелкозернистых частиц суспендирован в питательной среде. Носитель содержит целлюлозу (1,0-5,0 г/л) и/или кукурузную муку (1,0-8,0 г/л).

pH в реакторе поддерживается на уровне около 6,8; температура поддерживается на уровне около 24°C; растворенный кислород поддерживается на уровне около 50%; и расход воздуха поддерживается на уровне около 1 об/об/мин.

В процессе ферментации образуется слой пены, содержащий продукты жизнедеятельности микроорганизмов, его удаляют и собирают в контейнер, содержащий измеритель pH. Прибор для измерения pH пены используется для контроля pH пены: если изменение pH выходит за пределы диапазона от 2,0 до 3,0, добавляются регуляторы pH, чтобы восстановить pH в пределах этого диапазона для длительного сохранения содержащихся в нем метаболитов. Пену продолжают генерировать, продувать из реактора и собирать в течение 7 дней или дольше (например, неограниченно долго).

Пробы на количество КОЕ, процент спорообразования и/или чистоту, отбирают из биореактора и резервуара для сбора пены через 0 часов, затем дважды в день на протяжении всего процесса ферментации. Отбор проб также может производиться во время продувки и сбора пены. Когда/если процент спорообразования бактериальной культуры определяется (при анализе предметного стекла микроскопа) как превышающий 20%, в биореактор добавляют дополнительную питательную среду. Анализ, сочетающий жидкостную хроматографию с масс-спектрометрией, проводится на подкисленных образцах липопептидов, отобранных из резервуара для сбора пены. Пробы хранят при температуре примерно 4°C.

Цикл ферментации продолжается не менее одной недели с подачей питательной среды и сбором пены до тех пор, пока, например, пену больше нельзя будет извлекать из биореактора. Образование липопептидов наблюдается всего через 3 часа после инокуляции, при этом общий выход достигает 20-30 г/л в неделю (или 250 кг сухого липопептида в неделю). Выход продукта при таком способе может в 10 раз превышать культивирование *B. amyloliquefaciens* при традиционных, неантагонистических способах.

Концентрирование и сушка продукта

Клеточную биомассу, содержащую споры *B. аму*, собирают и сушат до остаточной влажности не более 8%. Оставшуюся свободную от клеток пену и/или надосадочную жидкость, которая может снизить поверхностное натяжение до 29-30 мН/м при 200 частей на млн, выпаривают с использованием промышленных испарителей для получения высоковязкой жидкости, содержащей био-ПАВ и другие метаболиты. Вязкое соединение затем высушивают с получением порошка, который измельчают и смешивают с сухими спорами в соотношении спор к надосадочной жидкости 1 г к 50 мг.

Конечный продукт предпочтительно содержит не менее 100 миллиардов спор на грамм. Идеальной обработкой продукта для крупного рогатого скота является 1 г композиции на голову крупного рогатого скота в день, или, если применяется на пастбище, 1 г на 100 кв.м. футов пастбища в неделю.

ПРИМЕР 4 – ПРОДУКТ *P. OSTREATUS* И *S. BOULARDII*

Один продукт на основе микроорганизмов по заявленному изобретению включает *P. ostreatus* и *S. boulardii*.

P. ostreatus можно получить, используя большие погружные ферментационные емкости объемом от 500 до 2800 литров. Цикл ферментации составляет около 10 дней, при этом средний выход биомассы составляет около $1,7 \times 10^6$ клеток/г. В качестве примера, при таких выходах содержание ловастатинола составляет >13% по массе.

S. boulardii можно получить, используя большие погружные ферментационные емкости объемом от 500 до 2800 литров. Цикл ферментации составляет около 16 дней, при этом средний выход биомассы составляет около 2.3×10^9 клеток/г.

Два продукта на основе микроорганизмов можно смешать и высушить для получения композиции таким образом, чтобы 1 суточная доза на одну голову крупного рогатого скота содержала 150 мг *P. ostreatus* и 10 г *S. boulardii*.

5 ПРИМЕР 5 – ПРОДУКТ *D. HANSENI*

Один продукт на основе микроорганизмов по заявленному изобретению включает *D. hansenii*. Одна доза продукта составляет 5×10^{10} КОЕ в день на одну голову крупного рогатого скота.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

- Government of Western Australia. (2018). “Carbon farming: reducing methane emissions from cattle using feed additives.” <https://www.agric.wa.gov.au/climate-change/carbon-farming-reducing-methane-emissions-cattle-using-feed-additives> (“Carbon Farming 2018”).
- 5 Gerber, P.J., et al. (2013). “Tackling climate change through livestock – A global assessment of emissions and mitigation opportunities.” Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome. Viewed April 5, 2019. <http://www.fao.org/3/i3437e/i3437e.pdf> (“Gerber et al. 2013”).
- 10 Holtshausen, L. et al. (2009). “Feeding saponin-containing *Yucca schidigera* and *Quillaja saponaria* to decrease enteric methane production in dairy cows.” J. Dairy Sci. 92:2809-2821.
- Ishler, V.A., (2016). “Carbon, Methane Emissions and the Dairy Cow.” Penn State College of Agricultural Sciences. <https://extension.psu.edu/carbon-methane-emissions-and-the-dairy-cow> (“Ishler 2016”).
- 15 Patra, A., Park, T., Kim, M. et al. (2017). Rumen methanogens and mitigation of methane emission by anti-methanogenic compounds and substances. J Animal Sci Biotechnol 8, 13. <https://doi.org/10.1186/s40104-017-0145-9> (“Patra et al. 2017”).
- Pidwirny, M. (2006). “The Carbon Cycle”. *Fundamentals of Physical Geography, 2nd Edition*. Viewed October 1, 2018. <http://www.physicalgeography.net/fundamentals/9r.html> (“Pidwirny
- 20 2006”).
- Storm, Ida M.L.D., A.L.F. Hellwing, N.I. Nielsen, and J. Madsen. (2012). “Methods for Measuring and Estimating Methane Emission from Ruminants.” *Animals (Basel)*. Jun. 2(2): 160-183. doi: 10.3390/ani2020160.
- United States Environmental Protection Agency. (2016). “Climate Change Indicators in the United States.” https://www.epa.gov/sites/production/files/2016-08/documents/climate_indicators_2016.pdf (“EPA Report 2016”).
- 25 United States Environmental Protection Agency. (2016). “Overview of Greenhouse Gases.” *Greenhouse Gas Emissions*. <https://www.epa.gov/ghgemissions/overview-greenhouse-gases> (“Greenhouse Gas Emissions 2016”).

Формула изобретения

1. Способ уменьшения вредных атмосферных газов и/или их исходных веществ, образующихся в пищеварительной системе и/или отходах домашних животных, включающий контактирование композиции, содержащей один или несколько полезных микроорганизмов и/или один или несколько продуктов жизнедеятельности микроорганизмов, с пищеварительной системой домашних животных, причем один или несколько полезных микроорганизмов представлены *Bacillus amyloliquefaciens*, *Pleurotus ostreatus*, *Saccharomyces boulardii*, *Debaryomyces hansenii*, *Lentinula edodes*, *Trichoderma viridae*, *Wickerhamomyces anomalus*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Starmerella bombicola*, *Meyerozyma guilliermondii*, *Pichia occidentalis*, *Monascus purpureus*, *Acremonium chrysogenum*, *Myxococcus xanthus*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus subtilis* штамм “B4” и/или *Bacillus licheniformis*.
2. Способ по п.1, отличающийся тем, что композиция контактирует с пищеварительной системой домашнего животного.
3. Способ по п.2, отличающийся тем, что композицию вводят непосредственно в пищеварительную систему перорально, посредством эндоскопии или посредством инъекции в желудок, рубец и/или кишечник.
4. Способ по п.1, отличающийся тем, что композицию вводят в пищеварительную систему домашнего животного с помощью фекальной трансплантации, с помощью свечек или с помощью клизмы.
5. Способ по п.1, отличающийся тем, что вредными атмосферными газами являются метан и углекислый газ.
6. Способ по п.1, отличающийся тем, что исходными веществами вредных атмосферных газов являются азот и аммиак.
7. Способ по п.1, отличающийся тем, что в пищеварительной системе домашнего животного контролируют метаногенные бактерии и/или простейших.
8. Способ по п.1, дополнительно включающий введение пребиотика с одним или несколькими полезными микроорганизмами и/или одним или несколькими продуктами жизнедеятельности микроорганизмов, при этом пребиотиком является сухой корм для животных, солома, сено, люцерна, зерно, фураж, трава, фрукты, овощи, овес или пожнивные остатки.

9. Способ по п.1, дополнительно включающий введение насыщенной длинноцепочечной жирной кислоты с одним или несколькими полезными микроорганизмами и/или одним или несколькими продуктами жизнедеятельности микроорганизмов, при этом насыщенной длинноцепочечной жирной кислотой является стеариновая кислота, пальмитиновая кислота и/или миристиновая кислота.
10. Способ по п.1, дополнительно включающий введение усилителя прорастания с одним или несколькими полезными микроорганизмами и/или одним или несколькими продуктами жизнедеятельности микроорганизмов, при этом усилителем прорастания является L-аланин, L-лейцин или марганец.
11. Способ по п. 1, дополнительно включающий введение одного или нескольких из следующих компонентов с одним или несколькими полезными микроорганизмами и/или одним или несколькими продуктами жизнедеятельности микроорганизмов: морские водоросли (*Asparagopsis taxiformis*); ламинария; 3-нитрооксипропанол; антрахиноны; ионофоры, выбранные из монензина и лазалоцида; полифенолы, выбранные из сапонинов и танинов; экстракт *Yucca schidigera* (продуцент стероидного сапонины); экстракт *Quillaja saponaria* (вид растений, продуцирующий тритерпеноидный сапонин); сероорганические соединения; экстракт чеснока; флавоноиды, выбранные из кверцетина, рутина, кемпферола, нарингина и антоцианидинов; биофлавоноиды, выделенные из зеленых цитрусовых плодов, шиповника и/или черной смородины; карбоновая кислота; и терпены, выбранные из d-лимонена, пинена и цитрусовых экстрактов.
12. Способ по п. 1, отличающийся тем, что полезным микроорганизмом является штамм *Bacillus amyloliquefaciens*
13. Способ по п. 12, отличающийся тем, что штаммом *Bacillus amyloliquefaciens* является *B. amyloliquefaciens* NRRL B-67928 ("*B. amy*").
14. Способ по п. 1, отличающийся тем, что полезным микроорганизмом является *Pleurotus ostreatus*.
15. Способ по п. 1, отличающийся тем, что полезным микроорганизмом является *Saccharomyces boulardii*.
16. Способ по п. 1, отличающийся тем, что полезным микроорганизмом является *Debaryomyces hansenii*.

17. Способ по п. 1, отличающийся тем, что одним или несколькими полезными микроорганизмами являются *P. ostreatus* и *S. Boulardii*.
- 5 18. Способ по п. 1, отличающийся тем, что одним или несколькими полезными микроорганизмами являются *B. amy*, *S. boulardii*, *P. ostreatus* и *D. Hansenii*.
19. Способ по п. 1, отличающийся тем, что полезным микроорганизмом является *W. anomalus*.
- 10 20. Способ по п. 1, отличающийся тем, что один или несколько продуктов жизнедеятельности микроорганизмов выбирают из био-ПАВ, ферментов, органических кислот, жирных кислот, аминокислот, белков, пептидов, спиртов, поликетидов, природных антибиотиков, альдегидов, аминов, стеролов и витаминов.
- 15 21. Способ по п. 1, отличающийся тем, что один или несколько продуктов жизнедеятельности микроорганизмов вводят без одного или нескольких полезных микроорганизмов.
- 20 22. Способ по п. 1, отличающийся тем, что один или несколько продуктов жизнедеятельности микроорганизмов очищают.
23. Способ по п. 1, отличающийся тем, что один или несколько продуктов жизнедеятельности микроорганизмов находятся в неочищенном виде, причем
- 25 указанный неочищенный вид содержит надосадочную жидкость, полученную в результате ферментации микроорганизма, который продуцирует указанные продукты жизнедеятельности.
24. Способ по п. 1, отличающийся тем, что один или несколько микроорганизмов
- 30 и/или один или несколько продуктов жизнедеятельности микроорганизмов добавляют в питьевую воду и/или в корм, потребляемые домашними животными.
25. Способ по п. 1, дополнительно включающий оценку влияния способа на уменьшение выбросов кишечных вредных атмосферных газов и/или их исходных
- 35 веществ в пищеварительной системе и/или отходах домашних животных.
26. Способ по п. 1, дополнительно включающий оценку влияния способа на контроль метаногенных бактерий и/или простейших в пищеварительной системе и/или отходах домашних животных.

27. Способ по п. 1, применяемый для уменьшения количества углеродных квот, используемых оператором, занимающимся животноводством.

28. Композиция для уменьшения количества кишечных вредных атмосферных газов и/или их исходных веществ в пищеварительной системе домашних животных, содержащая один или несколько полезных микроорганизмов и/или один или несколько продуктов жизнедеятельности микроорганизмов,

причем одним или несколькими полезными микроорганизмами являются *Bacillus amyloliquefaciens*, *Pleurotus ostreatus*, *Saccharomyces boulardii*, *Debaryomyces hansenii*, *Lentinula edodes*, *Trichoderma viridae*, *Wickerhamomyces anomalus*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Starmerella bombicola*, *Meyerozyma guilliermondii*, *Pichia occidentalis*, *Monascus purpureus*, *Acremonium chrysogenum*, *Myxococcus xanthus*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus subtilis* штамм "B4," и/или *Bacillus licheniformis*.

29. Композиция по п. 28, отличающаяся тем, что полезным микроорганизмом является штамм *Bacillus amyloliquefaciens*.

30. Композиция по п. 28, отличающаяся тем, что штаммом *Bacillus amyloliquefaciens* является *B. amyloliquefaciens* NRRL B-67928 ("B. amy").

31. Композиция по п. 28, отличающаяся тем, что полезным микроорганизмом является *Pleurotus ostreatus*.

32. Композиция по п. 28, отличающаяся тем, что полезным микроорганизмом является *Saccharomyces boulardii*.

33. Композиция по п. 28, отличающаяся тем, что полезным микроорганизмом является *D. Hansenii*.

34. Композиция по п. 28, отличающаяся тем, что одним или несколькими полезными микроорганизмами являются *P. ostreatus* и *S. Boulardii*.

35. Композиция по п. 28, отличающаяся тем, что одним или несколькими полезными микроорганизмами являются *B. amy*, *S. boulardii*, *P. ostreatus* и/или *D. Hansenii*.

36. Композиция по п. 28, отличающаяся тем, что полезным микроорганизмом является *Wickerhamomyces anomalus*.

37. Композиция по п. 28, дополнительно содержащая пребиотик, выбранный из сухого корма для животных, соломы, сена, люцерны, зерна, фуража, травы, фруктов, овощей, овса или пожнивных остатков.

5

38. Композиция по п. 28, дополнительно содержащая питательные вещества для восполнения пищевых потребностей домашних животных и укрепления здоровья и/или хорошего самочувствия домашних животных, причем указанные питательные вещества являются источниками аминокислот, пептидов, белков, витаминов, микроэлементов, жиров, жирных кислот, липидов, углеводов, стеролов, ферментов, кальция, магния, фосфора, калия, натрия, хлора, серы, хрома, кобальта, меди, йода, железа, марганца, молибдена, никеля, селена и/или цинка.

10

39. Композиция по п. 28, дополнительно содержащая насыщенную длинноцепочечную жирную кислоту, выбранную из стеариновой кислоты, пальмитиновой кислоты и миристиновой кислоты.

15

40. Композиция по п. 28, дополнительно содержащая усилитель прорастания, выбранный из L-аланина, L-лейцина и марганца.

20

41. Композиция по п. 28, дополнительно содержащая один или несколько из следующих компонентов: морские водоросли (*Asparagopsis taxiformis* и/или *Asparagopsis armata*); ламинария; нитрооксипропанола (например, 3-нитрооксипропанол и/или этил-3-нитрооксипропанол); антрахиноны; ионофоры, выбранные из монензина и лазалоцида; полифенолы, выбранные из сапонинов и танинов; экстракт *Yucca schidigera* (продуцент стероидного сапонины); экстракт *Quillaja saponaria* (виды растений, продуцирующие тритерпеноидный сапонин); сероорганические соединения; экстракт чеснока; флавоноиды, выбранные из кверцетина, рутина, кемпферола, нарингина и антоцианидинов; биофлавоноиды, выделенные из зеленых цитрусовых, плодов шиповника и/или черной смородины; карбоновая кислота; и терпены, выбранные из d-лимонена, пинена и цитрусовых экстрактов.

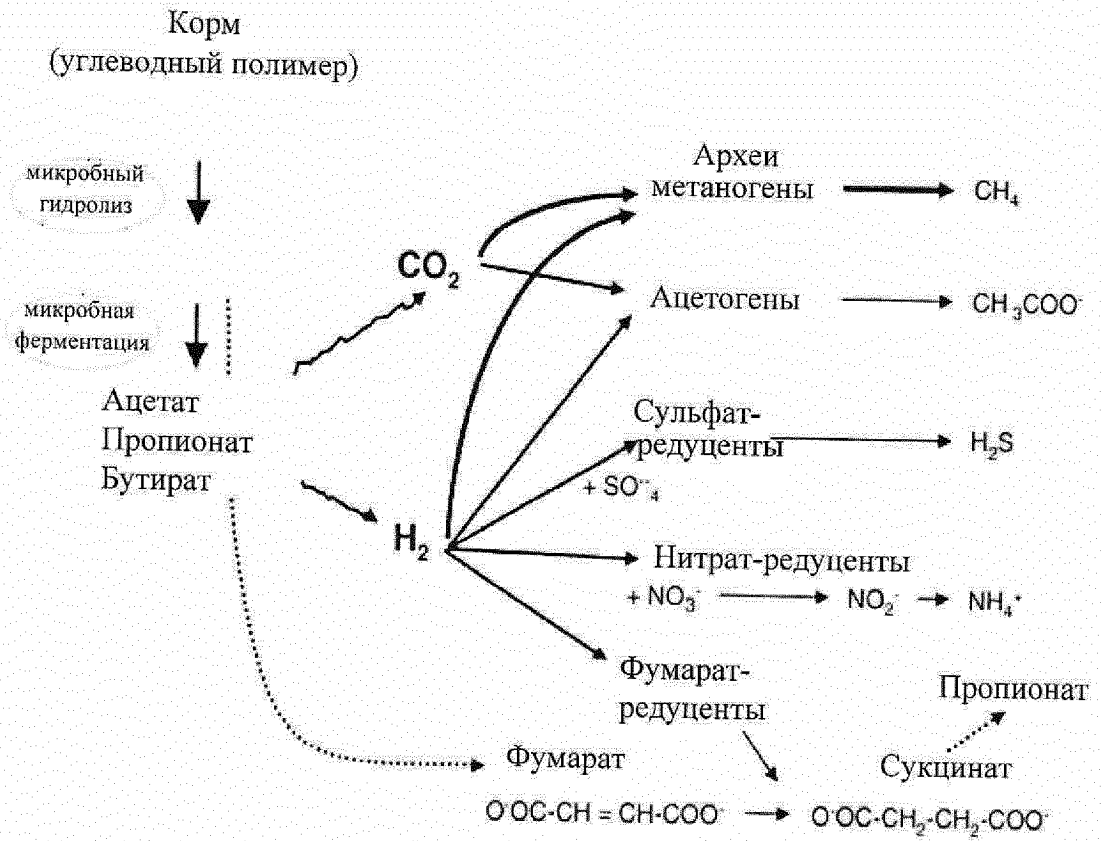
25

30

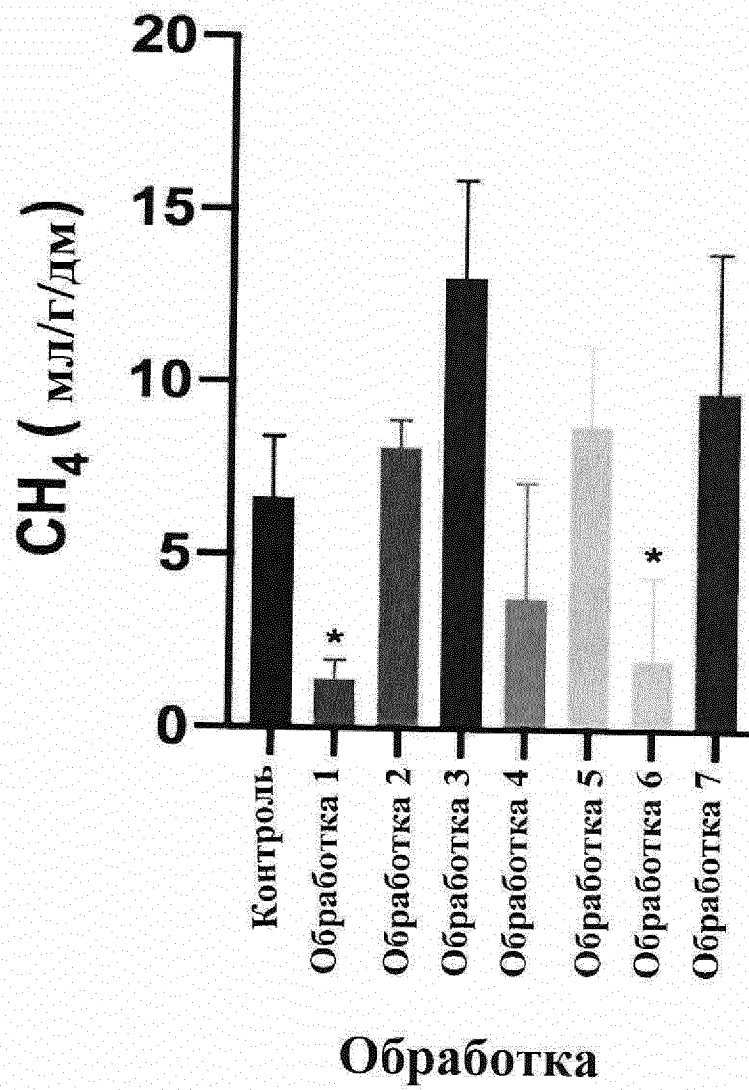
42. Композиция по п. 28, отличающаяся тем, что один или несколько продуктов жизнедеятельности микроорганизмов выбраны из био-ПАВ, ферментов, органических кислот, жирных кислот, аминокислот, белков, пептидов, спиртов, поликетидов, природных антибиотиков, альдегидов, аминов, стеролов и витаминов.

35

43. Композиция по п. 28, отличающаяся тем, что один или несколько продуктов жизнедеятельности микроорганизмов вводят без одного или нескольких полезных микроорганизмов.
- 5 44. Композиция по п. 28, дополнительно содержащая носитель, пригодный для применения одного или нескольких из следующих способов введения: перорального введения, введения с помощью эндоскопии, введения путем прямой инъекции в пищеварительную систему, введения с помощью свечей, введения с помощью фекальной трансплантации и/или с помощью клизмы.
- 10 45. Способ уменьшения выбросов парниковых газов из отходов животноводства, включающий введение композиции по любому из пп. 28-44 в пищеварительную систему домашнего животного.
- 15 46. Способ уменьшения выбросов парниковых газов из отходов животноводства, включающий введение композиции по любому из пп. 28-44 в отходы.
- 20 47. Способ по п. 46, отличающийся тем, что композицию вводят в отстойник, хранилище жидких отходов или резервуар-хранилище, используемые для хранения и/или обработки отходов животноводства.
48. Способ по п. 46, дополнительно включающий введение отходов животноводства в почву или выращиваемую культуру в качестве органического удобрения.
- 25 49. Способ по п. 48, используемый для уменьшения количества богатого азотом удобрения, которое вносят в почву или выращиваемую культуру.
- 30 50. Способ уменьшения выбросов парниковых газов из отходов животноводства, включающий введение в отходы софоролипида (био-ПАВ) и, при необходимости, *В. ату*.

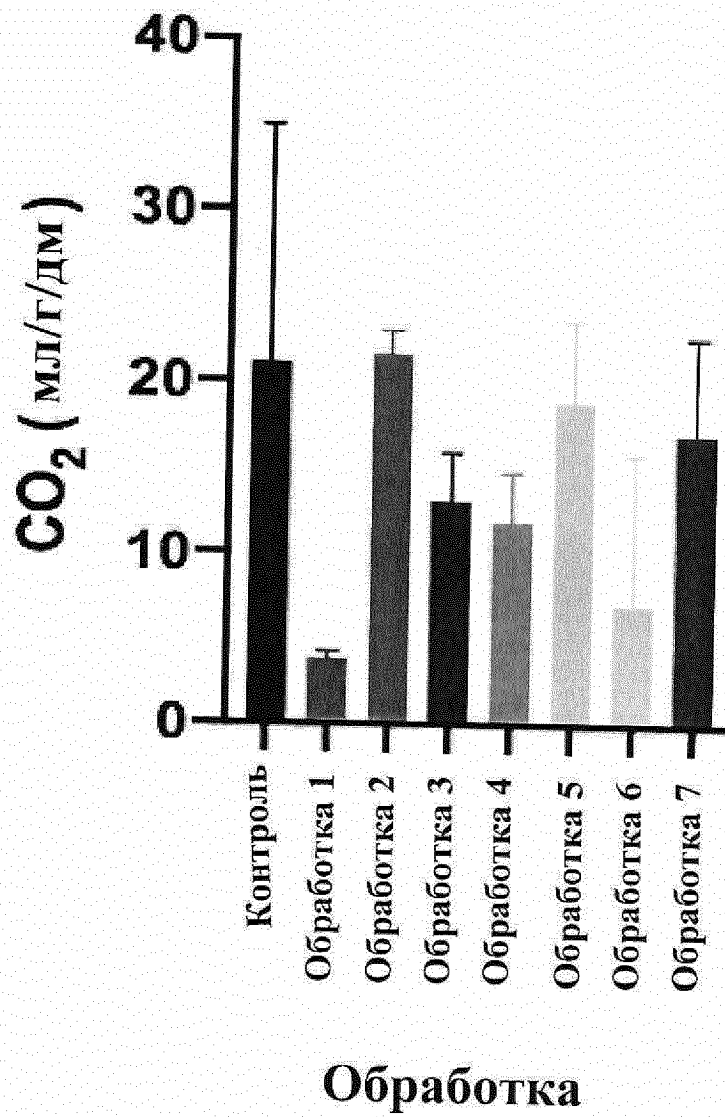


ФИГ. 1

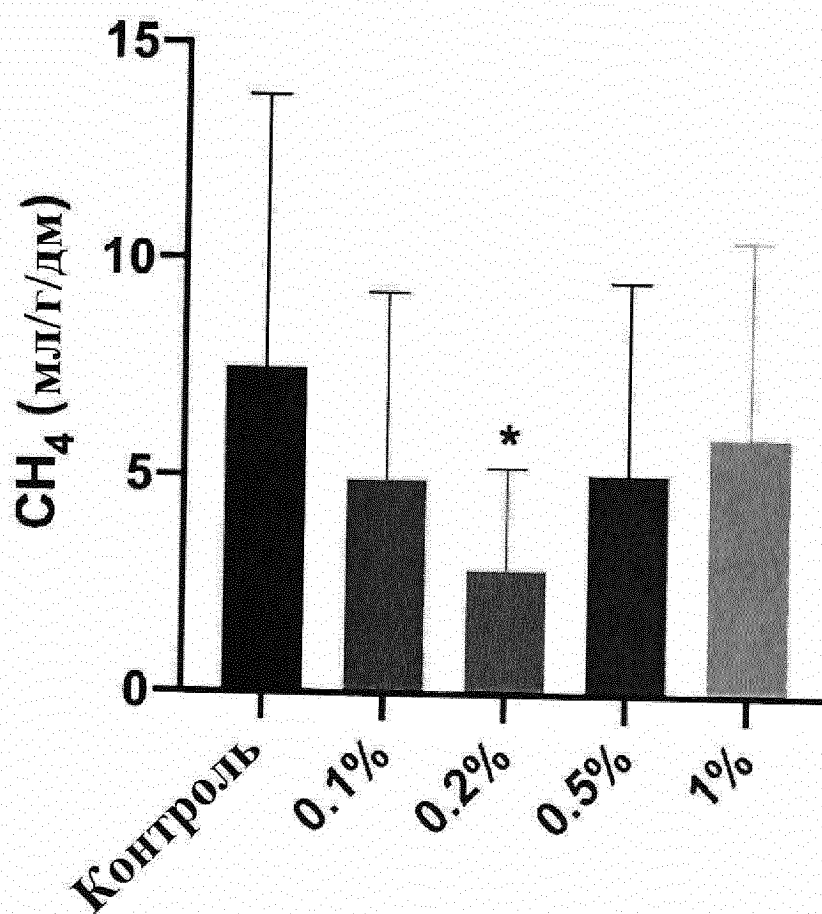
Среднее содержание CH_4 

ФИГ. 2

Среднее содержание CO_2



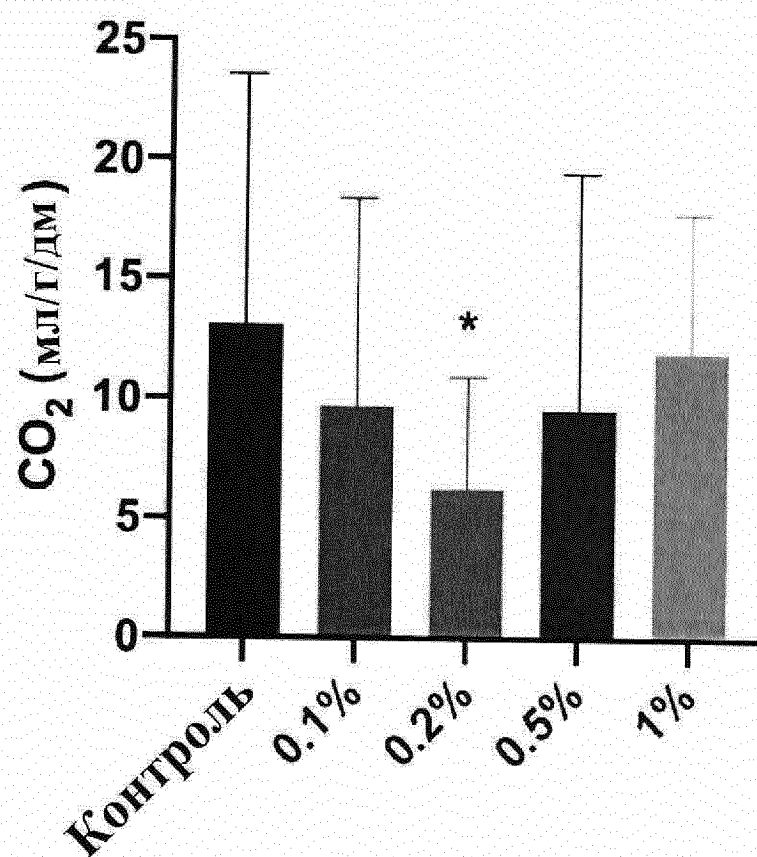
ФИГ. 3

Среднее содержание CH_4 

Обработка

ФИГ. 4

Среднее содержание CO_2



Обработка

ФИГ. 5