

Министерство сельского хозяйства Российской Федерации
Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования
«Кубанский государственный аграрный университет
имени И. Т. Трубилина»



На правах рукописи

ВОЛОБУЕВА ЕЛЕНА СЕРГЕЕВНА

**БИОТЕХНОЛОГИЯ ПОЛУЧЕНИЯ И ПРИМЕНЕНИЯ
ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ БИОДОБАВКИ ДЛЯ ПТИЦЫ НА ОСНОВЕ
МИКРОБНОЙ КОНВЕРСИИ РАСТИТЕЛЬНОГО СЫРЬЯ**

06.02.08 – кормопроизводство, кормление сельскохозяйственных животных и
технология кормов

диссертация на соискание ученой степени
кандидата сельскохозяйственных наук

Научный руководитель:
доктор с.-х. наук, профессор
А. И. Петенко

Краснодар 2020

Содержание

ВВЕДЕНИЕ	4
1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	10
1.1 Функциональные кормовые добавки. Состояние рынка и перспективы развития.....	10
1.2 Микроорганизмы, используемые при производстве функциональных добавок для нормализации микробиоты	14
1.3 Химические и биологические характеристики сырья и питательных сред для культивирования пробиотических микроорганизмов	27
1.4 Биохимические характеристики побочных продуктов переработки, перспективных для оптимизации экономических, экологических, технологических аспектов получения функциональных добавок	33
2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ	36
2.1 Объекты исследований	36
2.2 Методы исследований.....	38
3 РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ	48
3.1 Биохимический и биотехнологический мониторинг консорциумов микроорганизмов и оценка эффективности различных вариантов сред при выращивании главных пробиотических культур.....	48
3.1.1 Скрининг штаммов микроорганизмов для получения функционального функциональной биодобавки синбиотика	48
3.1.2 Основные микробиологические и биотехнологические аспекты получения и оценки качества синбиотической биодобавки на субстратах	60
3.1.3 Оценка экономической эффективности разработанной функциональной биодобавки	68
3.2 Оценка биобезопасности и токсичности полученной биодобавки	70

3.3 Влияние синбиотической биодобавки на зоотехнические показатели при кормлении перепелов.....	72
3.3.1 Подбор дозировок внесения. Изменение живой массы, сохранность перепелов, конверсия корма и затраты питательных веществ у птиц.....	72
3.3.2 Гематологические и биохимические показатели крови перепелов, морфофизиологические параметры развития внутренних органов птицы	77
3.3.3 Оценка экономической эффективности разработанной функциональной биодобавки при введении в рацион перепелов	88
4 РЕЗУЛЬТАТЫ ПРОИЗВОДСТВЕННОЙ АПРОБАЦИИ	90
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	94
ПРЕДЛОЖЕНИЯ ПРОИЗВОДСТВУ	97
ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ	98
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	99
ПРИЛОЖЕНИЯ	119

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы. В России множество птицефабрик и мелких хозяйств, но рынок функциональных кормовых добавок и биопродуктов не достаточно удовлетворяют спрос, у 40 % птицеводов возникают проблемы при поиске высококачественных функциональных кормов. Не смотря на широкий ассортимент на рынке белковых, витаминных и пробиотических добавок, большинство из них зарубежного производства. Они имеют высокую стоимость, многие узкого спектра действия. Именно поэтому актуальна разработка комплексных функциональных кормовых добавок, в том числе с использованием отечественных растительных компонентов [22, 29, 32, 34, 40, 58, 59]. В настоящее время внимание уделяется поиску решений в области получения кормовых функциональных продуктов, в том числе функциональных добавок, обладающих регулирующим действием при кормлении и улучшающих работу желудочно-кишечного тракта птиц [35, 37, 51, 53, 61, 68, 71].

Ввиду того, что Краснодарский край уже много лет находится в лидерах в области переработки растительной продукции, а в процессе такой переработки остаётся много побочных продуктов – использование их также является важным фактором для сохранения благоприятной окружающей среды. В большинстве случаев отходы переработки попросту запахивают, тем самым вызывая закисление почв. Такие, не свойственные биосфере в норме факторы, спровоцируют загрязнение окружающей среды, и нанесут ущерб будущим поколениям. Создание функциональной биодобавки решит существующую проблему переработки отходов, так как его основой будут именно побочные продукты переработки растениеводства, например отходов маслоэкстракционного производства – подсолнечного жмыха, сокового производства – яблочных, тыквенных выжимок, свеклосахарного производства – свекловичного жома, и другого сырья из сортов, отселекционированных на Кубани [1, 9, 25, 31, 89, 91].

Производство дешевых, высококалорийных, удобных в применении, а также экологически безопасных кормовых добавок с использованием полезной

бактериальной микрофлоры позволит свести к минимуму включение дорогих синтетических препаратов аминокислот, витаминов и минералов, а значит получить высокий уровень продуктивности животных, а также обеспечить высокое качество мяса, яиц и пригодность их к переработке с одновременным снижением затрат на производство ранее было рассмотрено авторами [69, 70, 75, 89, 102] и будет освещено в данной работе, ввиду важности этой темы в современном, динамично развивающемся мире. Огромные дешевые сырьевые ресурсы и практически полное отсутствие их переработки, дают нам широкую базу для исследований.

Экологическая безопасность, как самих производств, так и продуктов, производимых по подобным технологиям была оценена и доказана другими авторами [63, 67, 72, 80, 101]. Важно повысить качество окружающей нас природной среды с учетом интересов настоящих и будущих поколений [81].

Низкая себестоимость производства продуктов переработки растительной продукции в сравнении с аналогами, использующими дорогие высокобелковые компоненты животного происхождения и синтетические препараты аминокислот, витаминов, макро– и микроэлементов также показывает рентабельность таких производств. Объем производства главных культур, взятых для реализации и апробации диссертационных исследований, таких как подсолнечник – 420 тыс.га, свекла – 350 тыс.га, соя – около 100 тыс.га, тыква – около 15 тыс.га и другие, в Краснодарском крае достаточен для его осуществления.

При разработке функциональных кормовых добавок нового поколения вызывает наибольший интерес использование микроорганизмов, которые обладают способностью приживаться в желудочно-кишечном тракте сельскохозяйственных животных и птицы и нормализовать его микрофлору, а также оказывать положительное влияние на их иммунную систему. Одними из таких бактерий являются бактерии *Propionibacterium sp.*, обладающие витаминизирующим, иммуностимулирующим, антимуtagenным действием, и имеющие способность снижать токсическое действие ультрафиолета, а также химических соединений [12,

54, 120, 144]. Для сравнительной оценки пробиотического действия были выбраны также молочнокислые микроорганизмы.

Другим микроорганизмом для создания функциональной биодобавки был выбран *Azotobacter sp.* Новое направление в использовании азотобактера связано с открытием его антибиотических, пробиотических свойств, а также витаминизации. Помимо этого, в процессе своей жизнедеятельности бактерии *Azotobacter* секретируют в окружающую среду различные биологически активные вещества, в том числе цитокинины. Биомасса этих микроорганизмов играет роль эффективного биологического удобрения, стимулирующего развитие всей микробиоты в загрязненном объекте. Так *Azotobacter sp.* после внесения активно утилизирует образованный аммиак. Такие свойства частично сохраняются и после прохождения ими через желудочно-кишечный тракт [36, 87].

Степень разработанности темы. Известны исследования в области поиска новых функциональных добавок, а также использовании их в рационах сельскохозяйственной птицы, о чем говорят разработки А. Г. Коцаева (2010), А. И. Петенко (2012), Г. Г. Соколенко (2015), В. И. Фисинина (2003), Л. В. Клетчиковой (2011). Использование функциональных добавок в рационах сельскохозяйственных животных и птицы свидетельствуют об их важности, а также эффективности, так как отсутствие на рынке отечественных биопрепаратов с нужными потребителю характеристиками уменьшает экономическую эффективность на животноводческих и птицеводческих предприятиях различной формы собственности.

Актуальность данной диссертационной работы подтверждается входящей в тематический план научно-исследовательских и опытно-конструкторских работ ФГБОУ ВО "КубГАУ имени И.Т. Трубилина" на 2016-2020 гг. темой № 12 "Разработка сквозных аграрно-пищевых бионанотехнологий, получения функциональных экопродуктов на основе растительного, животного сырья и побочных продуктов переработки в системе органического и индустриального сельского хозяйства" (АААА-А16-116021110049-0).

Цель исследования – разработать функциональную биодобавку на основе пробиотической микрофлоры, применив в рецептурах побочные продукты переработки растениеводства, и подобрать нормы введения её в рацион птицы.

В соответствии с целью были поставлены следующие **задачи**:

1. Разработка технологии жидкофазной ферментации для получения функциональной синбиотической биодобавки, оценка эффективности различных вариантов сред при выращивании главных пробиотических культур;
2. Разработка схемы твердофазной ферментации для совершенствования технологии получения биодобавки на побочных продуктах переработки;
3. Исследование токсикологических свойств биодобавки;
4. Апробация способов использования полученной функциональной биодобавки в рационе перепелов: оптимальные дозировки, конверсия корма, изменение живой массы, сохранность птицы;
5. Определение гематологических и биохимических показателей крови перепелов;
6. Изучение морфо-физиологических параметров развития внутренних органов и мясных качеств тушек;
7. Расчет экономической эффективности применения функциональной биодобавки в рационах перепелов.

Научная новизна. Впервые разработана технология совместного культивирования штаммов *Propionibacterium shermanii* и *Azotobacter vinelandii*, создана универсальная закваска, позволяющая ферментировать побочные продукты переработки растительного сырья, получена биодобавка функционального назначения с иммуностимулирующими, витаминными и провитаминными свойствами для сельскохозяйственной птицы. В процессе исследования отправлена заявка на патент РФ на изобретение №2020110089, положительное решение о выдаче патента 15.09.2020.

Теоретическая и практическая значимость работы. Теоретически обоснована и практически разработана технология получения и применения

функциональной биодобавки для птицы с использованием побочных продуктов переработки растительного сырья. Результаты исследования применимы для повышения продуктивности и сохранности птицы, способствует получению высококачественной продукции птицеводства. Разработаны рекомендации по применению комплексной кормовой биодобавки при кормлении перепелов.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Результаты исследования технологии получения закваски в жидкофазном варианте ферментации, получение максимально эффективного синергетического эффекта при использовании штаммов микроорганизмов и органических наполнителей.

2. Результаты разработки технологии получения функциональной биодобавки при твердофазной ферментации на побочных продуктах переработки растениеводческого сырья.

3. Результаты оценки эффективности функциональной биодобавки в рационах перепелов: на сохранность птицы, ее продуктивность и затраты кормов на единицу продукции, биоресурсный потенциал, качество мяса перепелов.

4. Результаты изучения экономической эффективности применения функциональной биодобавки в птицеводстве.

Апробация работы. Материалы диссертационной работы доложены и обсуждены на VII, VIII, IX, X, XI всероссийской научно-практической конференции молодых ученых "Научное обеспечение агропромышленного комплекса" (Краснодар, 2014, 2015, 2016, 2017, 2018), V Международной конференции "Инновационные разработки молодых ученых – развитию АПК" (Ставрополь, 2016), VI Конгрессе молодых ученых, (Санкт-Петербург, 2017), международной научно-практической конференции "Научно-технический прогресс как фактор развития современного общества" (Оренбург, 2018), международной научно-практической конференции "Актуальные проблемы современной когнитивной науки" (Саратов, 2018), международной научно-практической конференции "Технологическая кооперация науки и производства: новые идеи и перспективы

развития" (Челябинск, 2018), международной научно-практической конференции "Научные исследования высшей школы по приоритетным направлениям науки и техники" (Пермь, 2018), международной научно-практической конференции "Инструменты и механизмы современного инновационного развития" (Казань, 2018).

Публикации. В результате работы над диссертационным исследованием было опубликовано 24 научных публикации, в том числе 3 статьи в рецензируемых журналах, рекомендованных перечнем ВАК РФ, 1 монография и 1 патент на изобретение РФ.

Объем и структура работы. Диссертационная работа включает следующие разделы: введение, обзор литературы, материалы и методы исследования, результаты собственных исследований, результаты производственной апробации, заключение, список литературы и приложения. Работа изложена на 127 страницах, включает 2 приложения, иллюстрирована 21 рисунками и 38 таблиц. Список использованной литературы включает 171 источник, в том числе 37 – иностранных авторов.

1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 Функциональные кормовые добавки. Состояние рынка и перспективы развития

Биотехнологические производства основаны на использовании процессов жизнедеятельности бактерий. Продукты биотехнологических производств подлежат классификации. В зависимости от количества их делят на продукты тонкого биологического синтеза – от 100 кг до 1000 т в год – вакцины, витамины, антибиотики для медицины. Основная стоимость связана с очисткой и анализом. Продукты маломасштабного биосинтеза – до 20 тыс. тонн в год – аминокислоты для пищевой промышленности, напитки, продукты получаемые ферментацией, антибиотики для сельского хозяйства. Основное условие – дешевизна.

По товарным формам делят на биопрепараты – основным компонентом являются жизнеспособные клетки микроорганизмов или другие организмы закваски, бактериальные удобрения. Инактивированная биомасса микроорганизмов – белок одноклеточных организмов. Биопрепараты на основе очищенных метаболитов – ферменты, витамины, гормоны, антибиотики.

По образованию биотехнологических продуктов в зависимости от стадии роста биологических объектов – первичные метаболиты, вторичные метаболиты. Управляя микробиологическими процессами, и зная физиологию применяемых культур микроорганизмов, станет возможно контролировать клеточные процессы, условия культивирования, а также влияние основных факторов окружающей среды.

Научное обоснование экологически безопасных биотехнологий производства, переработки, хранения, использования основных белково-витаминных сельскохозяйственных культур, отходов растениеводства при получении высококалорийных белково-витаминных пищевых и кормовых концентратов и добавок ведется по переработке растительных отходов производства, с использованием биотехнологических приемов для получения экологически безопасной продукции, по производству белково-энергетических добавок на основе

сои и подсолнечника для животноводства и птицеводства, по производству белковых добавок микробного синтеза на базе переработки дешевых углеводных субстратов (рисовая мука, отходы переработки зерна, мелассы). Так, сейчас существуют производства высококачественных функциональных добавок, сквашенных с помощью инновационных заквасок. Такие продукты обладают высокими пробиотическими и потребительскими свойствами, а технологии их получения позволяют интенсифицировать стадии технологических этапов, исключая при этом процессы изготовления лабораторных, а также пересадочных и производственных заквасок, при этом гарантируя получение продукта со стабильными свойствами, исключая обсемененность посторонней микрофлорой [62, 74, 117, 146, 154].

Известно использование отходов растениеводческих производств для получения кормовых продуктов, обогащенных живыми клетками лактобацилл и пропионовокислых бактерий, а также протеином. Создание таких питательных сред способствует повышению содержания биомассы живых клеток микроорганизмов и накоплению протеина в конечном продукте. Производится совместное культивирование *Lactobacillus sp.* и *Propionibacterium sp.* причем последние следует вносить в субстрат после 3 часовой предварительной инкубации лактобацилл. В конечном продукте концентрация живых клеток лактобацилл и пропионовокислых бактерий достигает достаточного количества для обогащения желудочно-кишечного тракта животного [1, 18, 79, 111, 127, 133].

Инновационные решения, заложенные в существующих изобретениях и патентах [14. 84, 91, 96, 94] позволяют создать технологические решения получения и производства дешевых, удобных в применении экологически безопасных, мало энергозатратных, высококалорийных, белково-витаминно-минеральных добавок на основе целевой биоконверсии и других биотехнологических приемов, дающих возможность свести к минимуму использование дорогих синтетических препаратов, аминокислот, витаминов, ферментов и минералов и максимально использовать региональный набор растительного сырья. Это позволит получить высокий уровень

продуктивности животных при обеспечении высокого качества молока, мяса, яиц и максимальной пригодности их к переработке с одновременным снижением затрат на производство [95, 114, 116, 118, 134].

В сложившейся на рынке ситуации важно оценить альтернативы импортным кормовым концентратам и добавкам [136, 160], выпускаемые на основе белково-витаминных и энергонасыщенных культур и при использовании широкого ассортимента получаемых при переработке вторичных отходов.

Динамика последних лет, а также прогнозируемое производство кормовых добавок в России и потребность в них отражена на рисунке 1.

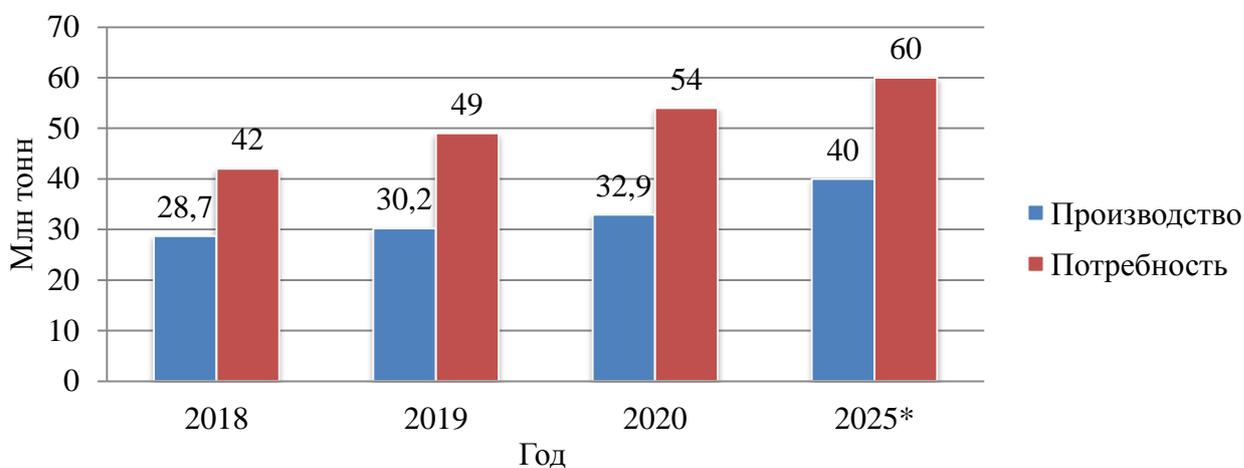


Рисунок 1 – Динамика производства и потребности в кормовых добавках в России

Перспективны расширения, увеличения ассортимента производимых продуктов, а именно кормопродуктов, потенциально пригодных в качестве сырья для нужд предприятий, производящих фармацевтические и ветеринарные препараты. Важно оценить экономическую целесообразность в связи с более высокими ценами на экологически безопасные продукты животноводства, в особенности на мировом рынке. Введение в рационы пробиотиков, пребиотиков и синбиотиков также является перспективным направлением, и помимо вышесказанного экономически значимо [130, 138, 149, 158, 164].

При этом также наблюдается повышение спроса на комбикорма для птицы на 33,7 % в связи с интенсификацией птицеводства, что отражено на рисунке 2.

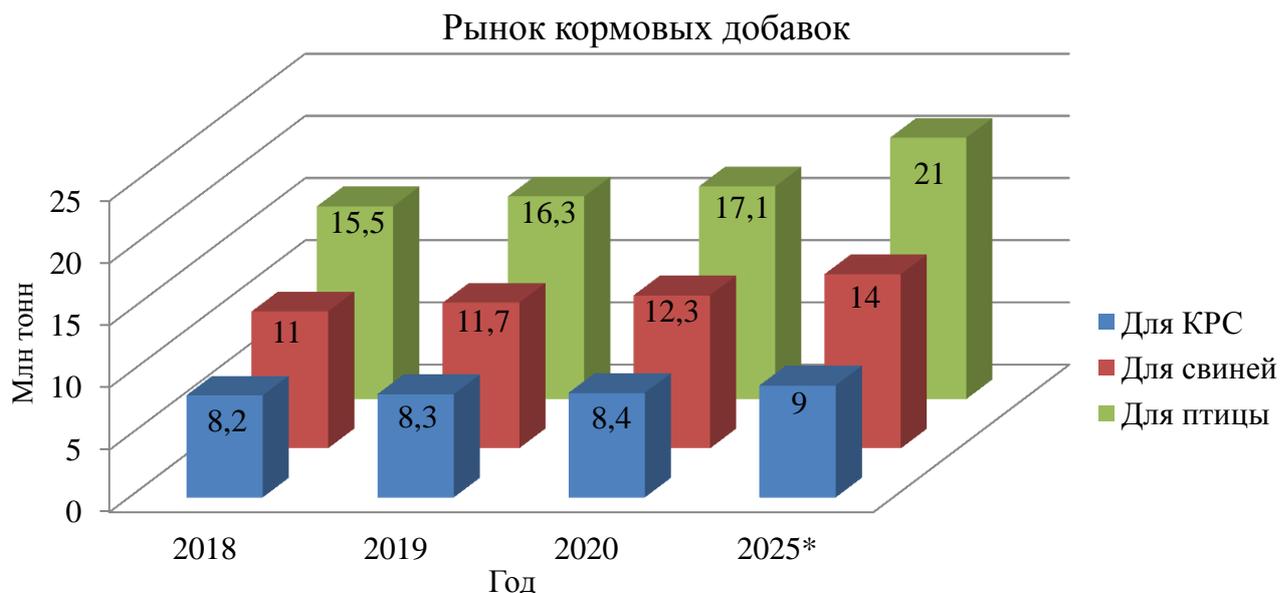


Рисунок 2 – Рынок кормовых добавок

Конкуренентоспособность предлагаемых технологий высока, в связи с возможностью использовать для комплектации перерабатывающих комплексов технологического оборудования, производимого в Краснодарском крае.

Использование вторичных продуктов переработки даёт возможность производить широкий ассортимент добавок, используемых в животноводстве и ветеринарии, как в чистом виде, так и в составе комплексных растительных энергетически насыщенных белково-витаминно-минеральных концентратов для обогащения комбикормов и рационов [143, 157, 159, 171]. Объем существующего производства сельскохозяйственных культур, необходимых для переработки по технологии и составляющих основу сырьевой базы вполне достаточен для осуществления этих целей. На основе закономерностей биосинтеза биологически активных веществ и метаболитов на производственных питательных средах предложено культивирование консорциумов микроорганизмов для получения биологически активных добавок с заданными свойствами [7, 8, 135, 145]. Краевое поголовье животных и птицы является очень мощным рынком потребления кормовых концентратов. Кроме этого производственная база хозяйств и птицефабрик дает возможность увеличить объемы поголовья не менее чем на 30 %.

Функциональная микрофлора используется для получения препаратов широкого спектра действия, но весьма интересными являются не только культуры

микроорганизмов, но и носители (субстраты) и непосредственно технологии получения биопрепаратов. В данной научной работе разрабатывается функциональная биодобавка с использованием функциональной микрофлоры в сочетании с достаточно дешевым по стоимости сырьем, в частности отходов животноводства и растениеводства, но обладающим достаточно высокой энергетической и биологической ценностью носителями. Спектр вопросов рассматриваемый в данных исследованиях достаточно широк, так как затрагивается проблема получения функциональных добавок высокого качества, но с низкой себестоимостью, благоприятно влияющая на получение качественной продукции, ускорение процесса биоконверсии отходов в частности перепеловодства, что приводит к решению экологической проблемы как внутри сельскохозяйственных помещения так и за их пределами, снижая аммиачную нагрузку на организм животного, тем самым повышая процент сохранности как молодняка, так и всего поголовья в целом [129, 142, 159, 171].

В результате выполнения данной диссертационной работы будут разработаны биотехнологии для получения кормовых продуктов, в том числе функциональных биодобавок для высокопродуктивного получения продукции птицы яичного и мясного направления. Их использование повысит рентабельность рационов и комбикормов на 10–20 %, обеспечивая высокое качество продукции животноводства и его адаптацию к технологиям переработки в сегменте производства натуральных продуктов, в том числе и для здорового питания.

1.2 Микроорганизмы, используемые при производстве функциональных добавок для нормализации микробиоты

Пропионовокислые бактерии входят в состав рода *Propionibacterium*. Начало их систематике положили Орла-Енсен и Фройденрайх, впервые выделив чистую культуру – бактерии *Acidi propionici*. Позже Тролли-Петерсон выделила идентичные штаммы методом Бури и обнаружила новый, отличавшийся слизиобразованием. В

России первым был А.Ф. Войткевич, описавший изолированные пропионовокислые бактерии [50].

Пропионовокислые бактерии – неподвижные неспорообразующие палочки различных размеров, от 8 до 10 мкм, имеют толщину 0,5–1 мкм. Они относятся к грамположительным бактериям, по Грамму окрашиваются хорошо, но слабо окрашиваются метиленовой синью, что дает отличную визуализацию при идентификации от молочнокислых бактерий. Клетки единичные, парные или в виде коротких цепочек, редко с утолщениями или веточками на концах. Палочковидные клетки склонны к полиморфизму, каталазоположительные, аэротолерантные (факультативно анаэробные), при брожении дают пропионовую кислоту, а также синтезируют значительные количества жирных кислот, фосфолипидов, липидов, играющих роль защитных компонентов против действия некоторых антибиотиков. Выяснено, что источники энергии, способствующие лучшему развитию данных микроорганизмов – это углеводы, спирты, органические кислоты, и др [43, 120].

Первые пропионовокислые бактерии были получены из сыра. Наиболее распространенные штаммы и сейчас получают из сыров, 60 % из них *Propionibacterium freudenreichii* и *Propionibacterium shermanii*. Воробьева и др. провели ряд исследований [10, 13, 15, 16, 17], после чего было внесено предложение о включении кокков *Propionibacterium coccoides* в род *Propionibacterium* помимо палочковидных бактерий, так как они имеют сходные свойства. Кокки превосходят ранее известные тем, что имеют широкие ферментативные способности и хорошо растут на плотных питательных средах.

Природа наградила пропионовокислые бактерии пробиотическими свойствами [144, 144] и большими синтетическими способностями, определяющими лабильность их обмена и приспособляемость к различным условиям [162, 163]. Они растут в среде, содержащей только глюкозу, минеральные соли и в присутствии витаминов. Обладают способностью к фиксации молекулярного азота, а также переключению с анаэробного на аэробный тип жизни, причем такому переходу способствует синтезируемый клетками витамин В₁₂ [88, 156]. Важная особенность

данных бактерий – это сверхсинтез витамина В₁₂. При его отсутствии, например, при культивировании в отсутствие солей кобальта – компонента витамина В₁₂, бактерии переходят с анаэробного на аэробный способ существования. В₁₂ содержится в клетках их природных штаммов в количествах, в сотни раз превышающих необходимое для осуществления пропионовокислого брожения как такового. В промышленном масштабе это органическое вещество получают микробиологическим синтезом, где главную роль играют пропионовокислые бактерии, имеющие огромное значение как продуценты витамина В₁₂ и других витаминов группы В, которые производятся путем ферментации [105, 155]. Этот витамин является комплексом, главную роль в котором играет трехвалентной кобальт [98]. Дефицит цианокобаламина особо опасен развитием физических, неврологических и психических расстройств, так как он контролирует синтез ДНК (а именно деление клеток), участвует в созревании эритроцитов, увеличивает уровень Т-супрессоров, снижает аутоиммунные процессы в организме, повышает иммунитет [24, 44, 103]. Помогает регулированию оптимального содержания метионина, валина, лейцина, изолейцина, треонина, а также воздействует на обмен белков. Раствор пропионовой кислоты даже слабой концентрации способствует снижению патогенной микрофлоры, нейтрализует микроорганизмы, и в первую очередь плесневые грибы [39, 165].

Пропионовокислые бактерии получают энергию в результате пропионовокислого брожения, происходящего также в клетках млекопитающих. Но здесь реакции циклического процесса противоположно направлены по отношению к реакции у бактерий, и как следствие, приводят к деградации ряда аминокислот, жирных кислот, тимина.

Выбранный для научных исследований штамм *Pr. shermanii* от других видов отличается более высокой термоустойчивостью. Главные сахара – галактоза, манноза, глюкозы нет, сбрасывает лактозу. Закваски, произведенные на основе пропионовокислых бактерий очень ценны, ввиду не перевариваемости в верхних отделах пищеварительного тракта, устойчивости к действию желчных кислот,

высоких пробиотических свойств, мощного иммуномодулирующего и антимуtagenного эффекта, способности к антитоксическому действию [99]. Помимо этого эти микроорганизмы обладают противовоспалительными свойствами, помогают пищеварению и применяются в составе терапии при лечении и восстановлении микробиоты кишечника [149, 150, 151].

Также *Propionibacterium sp.* обладают способностью к адгезии в кишечной эпителиальной ткани *in vitro* и *in vivo*, влияют на рост пробиотических бактерий в кишечных эпителиальных клетках, пропионовокислые бактерии предотвращают пролиферативное действие растительных лектинов и защищают метаболическую активность кишечной микробиоты *in vitro* [168, 169, 170]. Имеется и способность выдерживать низкую кислотность желудка, $\text{pH} = 2$, синтезировать витамины группы В, ингибировать активность ферментов, адгезивные свойства, способность к выработке жирных кислот (пропионовой, уксусной), а также доказана эффективность в профилактике атеросклероза за счет высокой степени холестеринметаболизирующей активности, что является их дополнительным плюсом.

Пропионовокислые микроорганизмы являются источниками ферментов антиоксидантного и антимуtagenного ряда, а также пероксидазы, каталазы. Холестеринметаболизирующая активность пропионовокислых микроорганизмов проявляется в большей степени, нежели у молочнокислых микроорганизмов и бифидобактерий, что доказывает внесение пропионовокислых микроорганизмов в состав кормовых добавок и большой оздоравливающий эффект [38, 123, 124]. Установлено, что эти бактерии также проявляют протеолитическую и липолитическую активность, они способны модифицировать синтез регуляторных соединений, а также деградировать холестерин в процессе культивирования, что открывает широкие перспективы для создания кормовых продуктов функционального питания для профилактики и лечения многих заболеваний, в первую очередь поражающих желудочно-кишечный тракт [45, 145].

Установлено, что *Pr. freundenreichii subsp. Freudenreichii 216 B-2* и другие пропионовокислые микроорганизмы устойчивы к кислотному стрессу, а также сохраняют высокую активность выживаемость в условиях низкой кислотности, а также они имеют систему антиокислительной защиты [110, 121, 166].

Внешние и внутренние мутагены воздействуют на всех живых существ, в том числе и бактерий. И в таких вроде бы привычных всем условиях бактерии постоянно подвержены воздействию мутагенов. Сформированный у них эндогенный и экзогенный механизмы помогают осуществлять защиту, образуя молекулы, осуществляя антимуtagenез.

До 1954 года пропионовокислые бактерии культивировали только в анаэробных условиях, и предположения о возможности их выращивания на воздухе при активном доступе кислорода вызывало вопросы у многих микробиологов. Однако позднее удалось доказать, что пропионовые бактерии содержат короткую дыхательную цепь, способны к осуществлению окислительного фосфорилирования, при котором переносчиками электронов служат цитохромы. Но если у высших организмов при дыхании акцептором электронов служит молекулярный кислород, то пропионовые бактерии, кроме него, в качестве акцепторов электронов используют также нитраты и фумараты, при участии цитохрома *b* в качестве переносчика, при этом дыхание у них анаэробное, встречающееся только у бактерий. Проведены также структурные исследования экзополисахарида, продуцируемого *Propionibacterium freudenreichii ssp. shermanii* [153].

Исследования экстрактов клеток пропионовокислых микроорганизмов показали, что у них проявляется высокая антимутагенная эффективность. Наиболее эффективно дисмутагенную активность проявили пропионовокислые бактерии *Pr. shermanii*. Эти штаммы обладают антимутагенностью против Нитрозогуанидина и Азида натрия, интересных для создания функциональных и профилактических биодобавок с антимутагенными свойствами [113, 120].

Вторым микроорганизмом в исследовании был взят азотобактер. Он открыт Бейеринком в 1901 году, из-за сходства с сине-зелеными водорослями он был назван

Azotobacter chroococcum. Выделяют три их вида: *Azotobacter*, *Azotomonas* и *Beijerinckia*. В результате электронно-микроскопического изучения выяснено, что клеткам присуща палочковидная и кокковидная форма, величина различная, с образованием слизистых капсул или цист. Пигмент клеток от желтоватого до бурочерного цвета. Нередко в клетках различные включения, перетрихи. Они относятся к грамтрицательным бактериям, на белковых средах не растут или проявляют слабый рост. На кислых средах не растут. Окисляют безазотистые вещества органической природы до углекислого газа и воды.

В таблице 1 представлена характеристика штаммов *Azotobacter chroococcum* и *Azotobacter vinelandii*.

Таблица 1 – Показатели *Azotobacter chroococcum* и *Azotobacter vinelandii*

Бактерия	Размер, мм	Форма	Поверхность	Блеск / прозрачность	Цвет
<i>Azotobacter chroococcum</i>	2–3	Круглые, с ровным краем	Гладкая	Блестящая мутная	Темно-коричневый
<i>Azotobacter vinelandii</i>	3–5	Круглые, с волнистым краем	Гладкая	Блестящая мутная	Темно-коричневый

Молодые клетки отличаются следующими морфологическими особенностями: монотрихальные короткие палочки, размерами 2,0–0,5 x 1,2–1,5 мк, зачастую утолщены и с тонкой капсулой, которой впрочем может и не быть – тогда кокки прилегают друг к другу. Цвет – светлый, бывают желтоватых оттенков. Часть из них может быть подвижна. *Azotobacter chroococcum* подвижны менее, чем *Azotobacter vinelandii*. Клетка движется при помощи жгутиков. С возрастом их количество сокращается, и подвижность снижается.

При старении культуры она приобретает темно-бурые оттенки, пигмент становится практически черным. Клетки мельчают и обретают круглую или овальную форму, уменьшаются в размерах до 1,5 x 1,2 мк. Переходя в стадию покоя образуются зооглейные скопления клеток и покрываются слизистой капсулой. В таком состоянии отлично переносят неблагоприятные условия и воздействия внешней среды. В неблагоприятных условиях часто дают инволюционные формы самых разнообразных очертаний.

После пересева на свежую среду цисты начинают прорастать, образуют карликовую клетку кокковидной формы и цикл развития возобновляется. Время прохождения клетками азотобактера цикла зависит от условий культивирования. Так, на твердых средах рост и развитие азотобактера проходит в течение недели, а на жидких средах в сочетании с аэрацией – несколько суток.

Цикл развития азотобактера относительно простой. Размножение проходит делением клеток вдоль поперечной перегородки. Количество и природа внеклеточных выделений азотобактера зависит от вида, штамма организма, от возраста культуры и от условий ее выращивания. Кроме аммиака, среди азотистых выделений азотобактера были обнаружены самые разнообразные соединения: оксимы, гидросиламин, гидразин, аминокислоты, пептиды, и т.д.

Благодаря метаболическим особенностям микроорганизмы рода азотобактер являются азотфиксаторами и существуют в самых разнообразных экологических условиях, обогащая почву и водоемы связанными формами азота, которые затем используются различными представителями органического мира – микроорганизмами, простейшими, высшими растениями.

Гранулы азотобактера по своим свойствам сходны с митохондриями в животной клетке. Однако между ними имеются различия: процессы окислительного фосфолирования у азотобактера происходят в цитоплазматических гранулах – в системах, морфологически гораздо более простых, чем митохондрии животных. Этим объясняется факт того, что у бактерий система окислительного фосфолирования является менее эффективной, чем у животных. Помимо того морфологические образования бактериальной клетки представлены непрочными структурами и легко разрушаются при получении бесклеточных экстрактов, тогда как митохондрии сравнительно стабильны.

Азотобактер – факультативный аэробный микроорганизм, у которого преобладает дыхательное фосфолирование в клетке, сопряженное с окислением субстрата. Главными субстратами окисления в клетке являются промежуточные компоненты цикла трикарбоновых кислот.

В клетках азотобактера были обнаружены адаптивные дегидрогеназы, переносящие водород от разнообразных субстратов, например от полиолов: маннита, арабита, рамнита, сорбита, ксилита и т.д. к дифосфопиридиннуклеодитам, при этом происходит окисление полиолов до соответствующих кетоз.

Изучение процесса фосфолирования, тесно связанного с дыханием, проводилось в основном с изолированными структурными элементами клеток азотобактера. При этом получали обычно низкие значения отношения фосфора к кислороду в пределах 0,5–0,8, вследствие пространственного разобщения структурированных окислительных ферментов с ферментами фосфолирования, которые менее прочно связаны с гранулами и могут легко переходить в растворимую фракцию. Степень пространственного разобщения окислительных и фосфолирующих ферментов зависит от условий опыта: от характера разрушения клетки, длительности центрифугирования, окисления кислотами и др.

Кислород в больших концентрациях угнетает определенные ферментные системы, связанные с циклом трикарбоновых кислот, из-за чего интенсивность дыхания азотобактера меняется в зависимости от природы дыхательного субстрата.

Азотфиксация с дыханием находится в зависимости, она значительно увеличивается при уменьшении парциального давления кислорода. Помимо этого известно, что для восстановления молекулярного азота необходим активированный водород, полученный при ферментативном дегидрировании питательного субстрата. Так, в процессе фиксации азот действует как акцептор активированного водорода. У азотобактера эволюционно выработался специфический механизм восстановления молекулярного азота до аммиака за счет окисления углеводов питательного субстрата. Эффективность азотфиксации зависит от наличия глюкозы и от концентрации фосфата. Пируват выполняет двойную функцию – как источник энергии и как восстанавливающий агент.

Количество белка в клетках азотобактера зависит от способа его выращивания. На твердых средах клетки азотобактера образуют обильную слизистую капсулу, состоящую из безазотистых веществ, что приводит к резкому

снижению процентного содержания белка в клетке. На жидких средах слизистая капсула вокруг клетки азотобактера почти не образуется. Клетки азотобактера, выращенные на жидкой среде с аэрацией содержат 75–80 % белка на сухой вес. Содержание белков у агаровой культуры значительно ниже и меняется в пределах 25–40 % на сухой вес клеток. При анализе агаровых культур азотобактера содержание белка было 11–18 %, а с возрастом несколько увеличивалась. Общего азота содержится 2,06 %.

Накопление белка у *Azotobacter chroococcum* и *vinelandii* находится в обратной зависимости от интенсивности продувания воздуха через культуру. В стационарной культуре относительное содержание белка равно 78,9 %, а в аэрируемой только 24,1 %. Также значительны изменения в накоплении белка от возраста культуры и от штаммовой принадлежности. Молодые полуторасуточные культуры азотобактера содержат белка меньше (22–26 %), чем зрелые пятисуточные культуры (29–34 %). По мере старения культуры в ней накапливаются дополнительные белки. При этом количественное содержание белка в культуре не соответствует продуктивности ее азотфиксации.

Качественный аминокислотный состав изучают методом двумерной хроматографии на бумаге. Этим методом доказано наличие в белках всех основных аминокислот, а также в малых количествах найдены метионин, аспаргановая и диаминопимелиновая кислоты. Азот, монокислоты, а также незначительные количества триптофана 0,32 %, тирозина 0,96 %, цистина 0,45 % по азоту. Отмечено, что лизина в диаминовой фракции содержится в большем количестве, чем в белках растительных и животных организмов. Также в клетках *Azotobacter chroococcum* и *vinelandii* наблюдается редкое явление: лизина в белке больше, чем аргинина. Следует отметить, что величина содержания аминокислот высокая за счет попадания во фракцию продуктов гидролиза нуклеиновых кислот, поэтому белки *Azotobacter chroococcum* и *vinelandii* нельзя отнести к белкам типа гистонов. Помимо белков в клетках присутствуют ферменты: аминифераза, глутамитрансфераза,

аспартаза, глутаминсинтетаза, дегидрогеназа и др. Комплекс ферментов, действующих на нуклеиновые кислоты и на их компоненты, у азотобактера богат.

Количественное содержание и нуклеотидный состав нуклеиновых кислот азотобактера не меняется при выращивании в различных условиях аэрации – с продувом воздуха и со встряхиванием. Ассимиляция же нитрита сопровождается существенными изменениями состава нуклеотидного фонда. Так, качественный состав свободных нуклеотидов в клетке азотобактера зависит от условий его культивирования.

Биосинтез белка и нуклеиновых кислот. Белково-синтезирующий аппарат азотобактера тесно связан с внешней мембраной клетки. Материал клеточной стенки и оболочек – фракция клеточной мембраны является активным местом синтеза белка у *Azotobacter chroococcum* и *vinelandii*. Синтез белка у азотобактера, как и у других бактерий, проходит через промежуточные стадии, сходные в общих чертах с этапами протеосинтеза у животных и растительных организмов: активация аминокислот, образование аминоацил с-РНК производных, включение C^{14} аминокислот в рибосому.

Клетки *Azotobacter sp.* содержат 0,93 % общего фосфора, из них нуклеиновый фосфор составляет 79,3 %, лецитиновый 8,9 % от общего фосфора. При отсутствии фосфора в среде усиливается окислительная деятельность и азотфиксация у азотобактера. Общего фосфора 2,5 %, минерального 0,3 % от сухого веса клеток. В процессе развития *Azotobacter sp.* происходят следующие количественные изменения основных фосфорных компонентов. В латентной и в начальной логарифмической фазах развития происходит наиболее интенсивное потребление ортофосфата среды на синтез основных фосфорных компонентов клетки: ДНК, РНК, фосфолипидов и АТФ. По мере старения культуры количество фосфорных соединений постепенно снижается или остается постоянным. Исключения составляют лишь фосфопротеины, количество которых увеличивается в процессе развития *Azotobacter chroococcum* и *vinelandii*.

Липиды. В клетках азотобактера присутствует около 25 % полимера – полиоксимасляной кислоты, относится к липидам, на сухую массу. 10 % от суммарных липидов составляют нейтральные липиды, они представлены свободными жирными кислотами, эфирами и коэнзимом Q. Содержит насыщенные и ненасыщенные жирные кислоты. Фосфолипиды локализованы в клеточной стенке и во внешней мембране.

Углеводы азотобактера представлены в виде полисахаридов – целлюлозы, гемицеллюлозы и лигнинподобных веществ. Содержание углеводов в клетках *Azotobacter chroococcum* и *vinelandii* в агаровой культуре около 32,3 % на сухую массу. На основании химического анализа обнаружено, что капсулы азотобактера состоят преимущественно из высокомолекулярного полисахарида. В культурах *Azotobacter chroococcum* и *vinelandii*, которые не были подвержены продуванию воздухом, содержится в среднем 6,1 % редуцирующих веществ, а в аэрируемой 2,5 % на сухой вес клеток. Разросшиеся оболочки клеток азотобактера состоят из пектиновых веществ. Капсулы азотобактера состоят из углеводов – пентозанов и схожих с ними. Количество целлюлозы 0,12 %, гемицеллюлоз 0,13 %, лигнинподобных веществ 33,1 %. Этот штамм содержит большое количество d-глюкозы, немного меньше d-галактозы и малое количество маннозы и глюкуроновой кислоты.

Любое воздействие стрессового характера в бактериальной клетке приводит к изменению ее функционирования [10, 73, 120, 121, 137, 141]. Правильно подобранные питательные среды и условия культивирования способны обеспечить получение бактериальной массы с высокими свойствами и жизнеспособностью.

Молочнокислые микроорганизмы широко и повсеместно распространены. Вместе с растительной пищей молочнокислые микроорганизмы попадают в желудочно-кишечный тракт, образуя его микрофлору. Элективной средой является молоко и молочные продукты [83]. Основным свойством молочнокислых бактерий, объединяющих их в одну группу – способность образовывать молочную кислоту в качестве продукта брожения. Такое брожение осуществляют гетерогенные

бактериальные организмы, относящиеся к родам *Lactobacillus*, *Leconostoc*, *Bifidobacterium*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Lactococcus*. По морфологии молочнокислые кокки – типичные стрептококки серологической группы N, кроме *Streptococcus thermophiles* [48, 109].

Сухой бактериальный концентрат лактобактерий в лиофилизированной форме, взятый нами для опытов, содержит штамм *Lactobacillus delbrueckii subsp. lactis* (он же *Lactobacillus bulgaricus*), имеет приятный специфический молочный запах, 10^9 в 0,1 г КОЕ молочнокислых бактерий. Температурный диапазон жизнедеятельности молочнокислых микроорганизмов разнообразен. У мезофильных форм диапазоны роста культур от 25 до 32 °С. У термофильных форм 38–45 °С [64].

Реологические характеристики и свойства криоконсервированных бактериальных концентратов молочнокислых микроорганизмов исследованы и описаны ранее [131, 132]. Исследованы антимикробные свойства в культуральной жидкости с биомассой и в фильтрате [95] и установлено их наличие, в том числе и в отношении грибов из рода *Candida*.

Синбиотический консорциум пропионовокислых и молочнокислых бактерий интересен при создании биологически активных биодобавок для коррекции дисбиотических нарушений и расширения базы данных пробиотических штаммов [1, 5].

Сухие дрожжи *Saccharomyces cerevisiae* – быстродействующие, живые клетки, которые сохраняют свою активность благодаря вакуумной упаковке. Они не заключены в оболочку, не требуют предварительного растворения в теплой воде, а их активация происходит при непосредственном соединении с другими ингредиентами. Внешний вид – мелкие гранулы разного диаметра. Срок хранения составляет 24 месяца. Чтобы перевести сухие дрожжи из спящего состояния в активную фазу, их нужно "активировать" – в жидкости (воду или молоко), температура которой составляет около 40 градусов, в течении 15 минут. Быстродействующие (инстантные) дрожжи, представляют собой новое поколение одноклеточных микроорганизмов, они мельче по размеру, чем активные, главное их

преимущество – их не нужно предварительно растворять в теплой воде. Кроме того, они химически и механически модифицируют глютен – основной протеин пшеницы. В производстве витаминов дрожжи используют в качестве источника витаминов группы В и D₂. *Saccharomyces cerevisiae* – одноклеточные микроскопические (5–10 мкм в диаметре) грибки (дрожжи) из рода сахаромицетов [6].

Сухие дрожжи должны содержать значительно больше сухих веществ (32–34 %) и собственных углеводов (в частности, трегалозы до 11–12 %) по сравнению с обычными дрожжами для сушки (соответственно 30–31 % против 7–8 %). Используемые расы должны иметь подъемную силу не выше 45 минут, мальтазную активность не более 70 минут, осмоустойчивость не более 10,5 минут и выживаемость более 70 % клеток в готовом продукте.

Размножение *Saccharomyces cerevisiae* происходит вегетативным путем, при помощи почкования. Во время роста на материнской клетке происходит митотическое деление ядра, образовывается клеточная стенка и клетки отделяются друг от друга. Материнская клетка обычно может образовывать 20–30 таких почек. На ней остается шрам от почкования, что позволяет определить её возраст.

У клеток дрожжей различают два стабильных состояниях, именуемых фазами: гаплоидная (сфероиды) и диплоидная (эллипсоиды). На каждой фазе они размножаются вегетативно – почкованием. Продолжительнее диплоидная фаза. Позже она переходит в гаплоидную фазу и образовывает гаплоидные аскоспоры, в результате мейоза. Гаплоидная фаза переходит в диплоидную путем слияния образовавшихся из аскоспор гаплоидных клеток.

При выращивании известен способ, при котором готовят водную суспензию клеток дрожжей, инактивируют эндогенные ферменты при температуре 90 °С около 20 мин, обрабатывают комплексом ферментов при 50 °С не изменяя при этом рН в течение 4 ч, постоянно перемешивая [91]. Или с применением гидролиза, не доводя до кипения в течение 20 мин, с дополнительной обработкой экзогенным комплексом ферментов [96]. Также существуют многостадийные способы получения дрожжей с аэрацией на 1 этапе и отделением биомассы от культуральной жидкости на втором.

В конце производится промывка и обезвоживание дрожжей. Еще один способ предусматривает приготовление питательной среды для дрожжей с содержанием 9 % сахарозы, а также 10 % вытяжки семян мака. Культивирование дрожжей происходит в аэробных условиях при температуре 33 °С в течение 6 ч [27, 115, 128].

Проанализировав известные изобретения и патенты были сделаны выводы и подобран оптимальный способ получения нашего продукта. У дрожжей различают два вида питания – экзогенное и эндогенное. При экзогенном питательные вещества в дрожжевую клетку поступают из внешней среды, при эндогенном (в основном при голодании) дрожжи используют свои резервные вещества, такие как гликоген, трегалозу, липиды, азотистые соединения.

1.3 Химические и биологические характеристики сырья и питательных сред для культивирования пробиотических микроорганизмов

Пропионовокислые микроорганизмы культивируют на специальных питательных средах, так как необходимо избирательное выявление в исследуемом материале именно этого микроорганизма. Для выделения чистых культур пропионовокислых бактерий используют питательные среды с присутствием незначительного, но достаточного количества кобальта. Такие количества кобальта, к примеру, содержит дрожжевой экстракт и томатный сок. Виды *Propionibacterium*, таким образом, следует относить к микроаэротолерантным формам. Расщепление гексоз идет по фруктозодифосфатному пути. Азот необходим микроорганизмам, так как без него невозможен синтез белковых веществ и, следовательно, построение протоплазмы живой клетки [8, 28, 122].

Проанализировав рынок заквасок, было установлено, что на нем преобладают закваски прямого внесения. Закваски прямого внесения в субстрат представляют собой глубокозамороженные культуры, могут быть в гранулированной форме с высокой концентрацией замороженных культур микроорганизмов. Данный продукт отличают: удобство использования, отсутствие предварительной активизации перед использованием, возможность подбора композиций культур микроорганизмов

необходимых для выработки конкретного вида продукта. По микробиологическим характеристикам закваски прямого внесения с использованием пропионовокислых микроорганизмов не должны содержать энтерококков, других бактерий, плесеней и дрожжей менее 10 КОЕ в 1 г.

Рынок питательных сред заполнен специализированными зарубежными предприятиями. Большинство питательных сред, поставляемых на отечественный рынок, либо дорогостоящие, либо имеют устаревший состав и нуждаются в усовершенствовании. Условия для роста пропионовокислых бактерий. Рост пропионовокислых бактерий возможен в пределах температур от 15 до 40 °С. Оптимальной температурой для развития принята 30±1 °С. Также они растут в пределах активной кислотности от 4,6 до 8. Оптимальной же величиной активной кислотности для роста пропионовокислых бактерий является значение от 6,5 до 7,0. Пропионовокислые бактерии являются солеустойчивыми. Так, нормальный рост и брожение происходит при содержании в лактатной среде 4 % раствора хлористого натрия. Клеточные стенки пропионовокислых микроорганизмов содержат пептидогликаны двух типов. Клетки *Pr. shermanii* и *Pr. freudenreichii* содержат пептидогликан, который связан с т-ДАП в третьем положении. Не содержит глюкозу, но содержит галактозу, маннозу и рамнозу, не обнаруженную в клеточных стенках других видов.

Пропионовые бактерии осуществляют синтез липидов, полифосфатов. Стандартной средой для выделения и пропионовокислых бактерий поддержания их жизнедеятельности является среда, имеющая следующий компонентный состав: триптиназа – 1 %, глюкоза – 1 %, дрожжевой экстракт – 0,5 %, NaHCO₃ – 0,1 %, К фосфатный буфер – 0,05 М, натрия-ормальдегид сульфоксалат – 0,05 %, твин 80 – 0,05 %, CaCl₂ – 0,002 %, NaCl – 0,002 %, MnSO₄ – 0,002 %, pH – 7,0.

Дополнительно можно обогатить х-цистеином (0,05 %) и твином – 80 (0,05 %), оказывающих дополнительную стимуляцию роста бактерий.

Далее готовится среда для поддержания роста пропионовых бактерий следующего состава: кукурузный экстракт – 2 %, глюкоза – 1 %, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ – 0,5 %, K_2HPO_4 – 0,2 %, $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ – 10 мг/л, pH – 7,0 с помощью NaHCO_3 [13,15,16].

В ГОСТ Р 56139-2014 «Продукты пищевые функциональные. Методы определения и подсчета пробиотических микроорганизмов» указано приготовление агаризованной питательной среды для определения пропионовокислых бактерий: 1000 см³ воды, 30 г пептона, 1 г дрожжевого автолизата, 20 г агара, 20 см³ 40 % – ного раствора молочной кислоты, pH 7,1±0,1. Стерилизуют при температуре 121±2 °С в автоклаве в течение 15 мин.

Источником углерода для пропионовокислых бактерии является лактоза, но значительно эффективнее в этом отношении проявил себя лактат, который обладает более высокой скоростью роста. Самыми низкоэффективными показали себя добавление пептонизированного молока и гидролизата казеина [94]. Пропионовокислые микроорганизмы нуждаются в дополнительном внесении витаминов значительно меньше, нежели молочнокислые, за счет того, что многие витамины, в том числе B_{12} и B_2 они синтезируют самостоятельно. Им необходим биотин, тиамин, пантотеновая кислота. Рост всех пропионовокислых бактерий дает введение твина 80, меньший эффект стимулирования дает рибофлавин. Низин оказывает сильное ингибиторное действие [120]. Ранее был изучен метаболизм пропионовокислых бактерий при культивировании на средах с различным содержанием Fe^{+2} [125]. Изучение влияния солей аммония на рост пропионовокислых бактерий дало результаты: благоприятен уксуснокислый и щавелевокислый аммоний, не дал результата – NH_4NO_3 ; $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$. Помимо этого в составе обнаружены пептидазы.

Анализ питательных сред для азотобактера был проведен на основании имеющейся к настоящему времени информации по биологической фиксации им азота атмосферы. Известно, что азотфиксирующие микроорганизмы окисляют молекулярный азот сначала в азотистую кислоту, а затем в азотную и может связывать азот непосредственно с некоторыми органическими веществами клетки,

например с дикарбоновыми кислотами и превращать их в аминокислоты, из которых далее синтезируются белки. При выращивании же азотобактера на жидкой среде с сахаром или маннитом установлено наличие аммиака в культуре. Этот аммиак имеет двойное происхождение – в начале развития культуры это первичный продукт фиксации, так как еще не истощен энергетический источник, в конце развития – результат дезаминирования продуктов автолиза. Процесс фиксации азота локализован в протоплазме живой клетки, а не за её пределами. Также допускается возможность активации инертного азота атмосферы при помощи фермента нитрогеназы. Процесс фиксации азота проходит в две фазы. В 1-й фазе происходит восстановление азота до аммиака, а во 2-й – потребление аммиака для конструктивного обмена. Но эти процессы не всегда хорошо уравновешены между собой. При выращивании азотобактера на щелочных средах с солями органических кислот молодая культура в значительных количествах выделяет аммиак. Вследствие подщелачивания среды рост и развитие азотобактера идет медленнее, а потребление аммиака на синтез веществ протоплазмы ниже фиксации.

Культура бактерий *Azotobacter vinelandii* востребована и интересна ввиду способности продуцировать в среду полисахариды и витамины [139]. Но, не смотря на это, данных касающихся биосинтеза альгината бактериальными клетками на сегодняшний день недостаточно. Поэтому исследования по оптимизации условий культивирования бактерий рода *Azotobacter* являются весьма актуальными. Изучено влияние концентрации глюкозы на рост и биосинтез полисахарида культурой *Azotobacter vinelandii* при глубинном культивировании [57, 86].

При выращивании азотобактера на средах с глюкозой и маннитом аммиак в заметных количествах появляется только лишь после израсходования энергетического материала. В нормально развивающейся молодой культуре в среде с достаточным количеством энергетических веществ аммиак очень трудно обнаружить, так как скорость его образования и его дальнейшая ассимиляция тесно связаны.

Аммиак как источник азота усваивается клетками азотобактера очень хорошо, при этом наблюдается почти полное подавление фиксации азота. Такое угнетение азотфиксации происходит независимо от того, выращивался ли азотобактер предварительно на молекулярном, аммиачном или нитратном азоте. Легко превращаются в аммиак соединения, такие как мочевины, полностью угнетают азотфиксацию.

Так, фиксация азота атмосферы заключается в восстановлении водородом с помощью фермента активированного молекулярного азота до аммиака. При восстановлении азота происходит его взаимодействие с молекулярным водородом через посредник. Нужный для этого процесса водород в молекулярной форме получается из питательного субстрата – глюкозы, или из воды и гидрогеназой переносится к посреднику. В результате этой реакции образуется восстановленный посредник, который далее реагирует с перекисью водорода и образует свободный радикал. Это соединение является сильным восстановителем, осуществляющим первую фазу фиксации азота с образованием аммиака. Аммиак образуется в конце цепи последовательных реакции азотфиксации и является началом ассимиляционного процесса, а аммоний затем быстро соединяется с внутриклеточными органическими компонентами.

Помимо этого было обнаружено, что в суспензиях азотобактера имеет место накопление гидроксиламина при выращивании культуры на молекулярном, нитратном и аммонийном азоте. При этом образование гидроксиламина происходит быстрее из молекулярного и нитратного азота, чем из аммонийного. Степень аэрации культур и энергетический источник оказывают существенное влияние на процесс образования гидроксиламина. При слабой аэрации *Azotobacter chroococcum* гидроксиламин легко обнаружить, при сильной аэрации культуры азотобактера гидроксиламин также образуется, но обнаружение его существенно затруднено вследствие синтетических процессов в клетке. Изучение действия гидроксиламина на жизнедеятельность *Azotobacter chroococcum* показало, что подавление азотфиксации этим соединением связано с отравлением дыхательных ферментов

азотобактера. Из этого следует, что фиксация азота атмосферы может идти через стадию аммиака, минуя стадию гидроксилamina, образование которого представляется допустимой, но не обязательной стадией азотфиксации.

Источник углеродистого питания оказывает действие лишь на скорость роста культуры, но не влияет на качество белка. Известно, что для биологической фиксации азота необходимы кетокислоты, акцептирующие аммиак.

Азотобактер хорошо усваивает азот аммиачных солей, если они содержатся в среде в относительно низких концентрациях, тогда как их высокие концентрации не усваиваются клетками. При этом аммиак конкурирует с молекулярным азотом, полностью или частично угнетая азотфиксацию азотобактера. Таким образом, внесение небольшого количества нитрата стимулирует азотфиксацию азотобактера, тогда как большая концентрация угнетает ее.

Также известно, что нельзя выращивать азотобактер на средах с содержанием азота, так как они полностью переходят на его поглощение и перестают фиксировать молекулярный азот. В качестве источника азота азотобактер хорошо использует мочевины, при наличии которой в среде фиксация молекулярного азота не происходит. Так, клетки азотобактера легко превращают мочевины в аммиак. Азотобактер приспособился к усвоению только простейших форм азота и, более того, в процессе эволюции приобрел новую способность фиксировать азот атмосферы, позволяющую ему существовать в безазотистой среде.

Изучение влияния различных источников азотного питания на рост и биосинтез полисахарида культурой *Az. vinelandii* показало, что максимальный уровень экзополисахарида во всех опытных вариантах накапливался на 4 сутки. Наибольшее содержание альгината в культуральной жидкости отмечалось в варианте с дрожжевым экстрактом и составило 5,6 г/л. Наименьший уровень альгината наблюдался в контрольном варианте – 0,7 г/л. Это, связано с тем, что азотфиксации недостаточно для высокого выхода альгината, и требуется внесение дополнительных источников азота. Наибольшим стимулирующим эффектом на ростовые процессы и биосинтез альгината обладает дрожжевой экстракт [56].

Влияние соотношения углерода и азота в питательной среде на молочнокислые и пропионовокислые бактерий, а также некоторые аспекты оптимизации сред для такого консорциума ранее изучено авторами [20, 21]. На основании этой информации также были проведены действия по подбору оптимальных условий культивирования и создания оптимальных питательных сред.

Из внешних факторов известно влияние на интенсификацию процесса накопления биомассы молочнокислых и пропионовокислых бактерий в условиях глубинного культивирования путем обработки посевного материала ультразвуком частотой 880 кГц с плотностью энергии 0,1–0,7 Вт/см³ [39].

1.4 Биохимические характеристики побочных продуктов переработки, перспективных для оптимизации экономических, экологических, технологических аспектов получения функциональных добавок

В настоящее время биотрансформацией растительного сырья, в том числе побочного, при помощи использования бактериальных заквасок занимаются все более интенсивно [7, 119, 126]. Очень интересным объектом являются отходы томатного производства. В них содержится до 4 % белка, до 4 % жира, до 2 % сахара, что говорит об их высокой пищевой ценности. Глобулин – основной компонент белкового комплекса выжимок томатов, из наиболее ценных компонентов также содержатся глюкозиды: нарингин и α -томатин.

Не менее интересным объектом являются ботва и стручки зеленого горошка. В них много витаминов группы В. Из жирорастворимых витаминов присутствуют: бета-каротин, А, К, Е, но больше всего витамина К.

Тыквенные выжимки составляют большую группу отходов, имеющих перспективу использования в кормлении. Характеристики свежих тыквенных выжимок, %: влажность 80,0, сырой жир 3,8, сырая зола 0,8, сырая клетчатка 3,7, сырой протеин 4,1, крахмала до 19, на сухую массу, пектиновых веществ 13, каротина до 18 мг %. При этом клетчатки всего 0,6–1,4 %, титруемая кислотность 0,035–0,053 %, активная кислотность рН 5,8–7,5, БЭВ 10–11 % [47].

Пивная дробина – побочный продукт пивоварения, это высокопротеиновый ценный кормовой продукт – остатки ячменного сырья после выработки из него сусла. Также в ней содержатся: железо, йод, кальций, магний, фосфор, цинк, натрий, калий, марганец, кобальт, медь, каротин, токоферол, тиамин, рибофлавин, холин, никотиновая кислота, но она бедна водорастворимыми витаминами. При смешивании с микроорганизмами, последние частично перерабатывают клетчатку в легко усваиваемые сахара [157].

Интересным вторичным сырьем являются виноградные выжимки. Это плотный остаток твердых частей виноградной грозди, получаемый после прессования сладкой и сброженной мезги. Основными составными частями виноградных выжимок является кожица, ее обрывки, семена и мякоть. Количество выжимок составляет 11–15 % от массы перерабатываемого винограда. Несброженные выжимки содержат: сахара 4–10 %, семян 21–26 %, клетчатки 9–13 %, азотистые вещества 0,2–2 %, фенольных веществ 0,5–5,4 %, жиров 0,1–5 %.

Последние годы важной отраслью стали отходы подсолнечника как экологические продукты и корма для животноводства. Запуск в стране ряда амбициозных животноводческих проектов потребовал увеличения производства кормового подсолнечного жмыха, шрота [40]. Жмых – продукт масличной мезги при получении масла прессовым способом. Жмыховая крупка – жмых, раздробленный до частиц размером 3–15 мм в зависимости от назначения. По аминокислотному составу и биохимической ценности лузга из семян подсолнечника превосходит аналогичные показатели даже зерновых злаков: она содержит больше лизина, метионина, цистина и триптофана. Значительно больше в ней кальция и фосфора, богата витаминами комплекса В [4, 65]. Технология обработки не предусматривает температурного влияния на белок. Белок остается не денатурированным, поэтому он более водорастворимый и быстрее усваивается организмом животных. Процентный состав и питательная ценность подсолнечной лузги, %: протеин до 41,0; жир 6,8; клетчатка 16; безазотистые экстрактивные вещества 26,3; золы 6,5; воды 11; перевариваемого протеина 37,2 в 100 кг корма,

кормовых единиц 108,8 в 100 кг корма. Добавление ее в ежедневный рацион приводит к увеличению мясных приростов [3, 19, 65, 87]. Большая часть кормов, идущих скоту, особенно солома, мякина, картофель, турнепсы и т.п. сравнительно бедны азотистыми веществами. Это приводит к затруднениям в усвоении безазотистых веществ, особенно клетчатки [85, 100].

Свекловичный жом – также важнейший побочный продукт переработки, на 92-95 % состоит из воды, на 5–8 % из сухих веществ. На сухие вещества 86–94 %, это зола; целлюлоза; сахар; пектин; протеины; клетчатка; лизин; арабан; аминокислоты (пантотеновая, биотин, В₁, В₂, В₆, аскорбиновая); крахмал; фосфор; кальций. Состав жома характеризуется следующими данными (в %): белок 0,5, зола 0,3, гемицеллюлоза 1,2, пектиновые вещества и арабан 2,7, сахар 0,2, клетчатка 1,3.

Соевая окара – соевая пульпа, получаемая при производстве соевого молока. Содержит много клетчатки и белка, в последнее время применяется в кормопроизводстве в составе корма для свиней, коров и другого скота. Химический состав окары, %: 70–80 воды, 4,5 белка, представленного полным набором аминокислот, 3,0 жира, 11,0 углеводов. Окара содержит 12–14,5 % клетчатки в пересчете на сухое вещество, а так же железо, кальций, рибофлавин. Также широко представлены микроэлементы: помимо кальция, натрия, калия и магния содержатся фосфор, йод, бор, железо, цинк. Однако в сое содержатся биологически активные вещества антипитательной направленности, вещества, вызывающие аллергические, эндокринные и рахитические расстройства: ингибиторы протеазы, гемагглютинины, сапонины и др.

Зеленый корм, гидропонная зелень способствует повышению перевариваемости и усвояемости питательных веществ. Кормление гидропонной зеленью может полностью заменить витаминно-минеральный премикс.

Изучив биохимические характеристики побочных продуктов переработки растительного происхождения, для оптимизации экономических, экологических и технологических аспектов получения целевых кормовых функциональных добавок были отобраны наиболее перспективные компоненты, рассматриваемые ниже.

2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Исследования проводились с 2014 по 2020 год на базе факультета перерабатывающих технологий, кафедре биотехнологии, биохимии и биофизики, научно-хозяйственные опыты на птице были выполнены на биоцентре факультета ветеринарной медицины ФГБОУ ВО «Кубанский государственный аграрный университет имени И.Т. Трубилина» и явились частью тематического плана научно-исследовательской работы и опытно-конструкторской тематики №12 «Разработка сквозных аграрно-пищевых бионанотехнологий, получения функциональных экопродуктов на основе растительного, животного сырья и побочных продуктов переработки в системе органического и индустриального сельского хозяйства» (номер регистрации (АААА-А16-116021110049-0)) в 2016–2020 гг. Производственная проверка проходила на базе КФХ Цыганок Л. Э., г. Краснодар, х. Копанской, Почтовое отделение №85.

2.1 Объекты исследований

Основными объектами исследования служили:

1. Микроорганизмы: рода азотобактер, классические молочнокислые, пропионовокислые бактерии, дрожжи, а также их синбиотические свойства.
2. Питательные среды различных подобранных составов.
3. Растительные вторичные продукты переработки.

Схема проведения биотехнологических исследований представлена на рисунке 3.

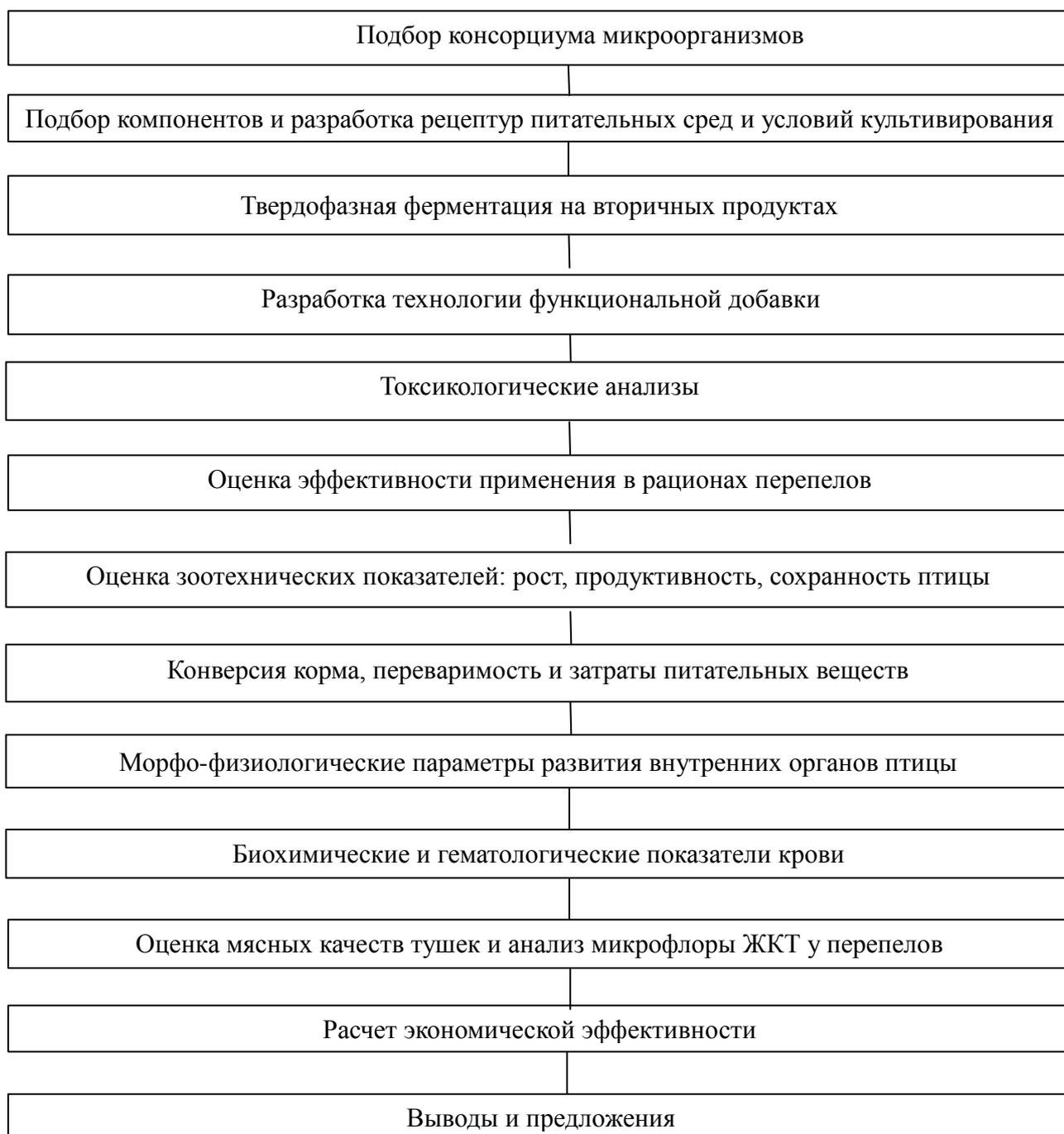


Рисунок 3 - Схема исследований

2.2 Методы исследований

Работа проводилась поэтапно. На первом этапе исследований нами был проанализирован штамм пропионовокислых бактерий, производства экспериментальной биофабрики г. Углич, изучены его свойства и подобраны условия культивирования. Сухая закваска пропионовокислых бактерий содержит штамм *Propionibacterium freudenreichii subsp. shermani* с 10^9 КОЕ в 0,1 г.

Количественный учет клеток пропионовокислых бактерий проводили методом предельных разведений Коха с использованием раствора хлористого натрия по ГОСТ ISO 6887-6-2015. Растворы индикаторов готовили по ГОСТ 4919.1-2016. Для идентификации микроорганизмов делали мазки, окрашивали по Грамму в соответствии с ГОСТ ISO 7218-2015 и проводили микроскопирование.

Разрабатывали рецептуры питательных сред для культивирования микроорганизмов, приведённые в таблице 2.

Таблица 2 – Состав разработанных сред

Состав, г/л	Среда 1	Среда 2	Среда 3	Среда 4	Среда 5
Томатный сок	150	150	150	250	250
Глюкоза	10	–	10	–	10
Кукурузный сироп	–	30	30	30	–
Пептон	5	5	5	5	5
Дрожжевой экстракт	5	5	5	5	5

На втором этапе исследования нами был проведен подбор штаммов микроорганизмов для создания эффективного синбиотического консорциума и анализ свойств полученных консорциумов. При выборе культур для создания синбиоза с пропионовокислыми микроорганизмами были также проанализированы сочетания последних с молочнокислыми микроорганизмами и дрожжами, азотобактером на питательных средах.

Физраствор для анализа был приготовлен по ГОСТ 4517-2016.

Анализ количества выживших клеток азотобактера проводился путем высева микроорганизмов на питательной среде на чашки Петри со средой Эшби, в трех повторностях в соответствии с ГОСТ Р 56139-2014.

Среда Эшби для культивирования микроорганизмов рода азотобактер. Мы модернизировали ее за счет введения в состав карбоната кальция и замены сахарозы на маннит – в 1 эксперименте и глюкозу – во втором. Также в лучшую по результатам первого этапа исследования среду № 4 добавляли маннит и сахарозу по 10 г/л, а также карбонат кальция 10 г/л. Распределяли в качалочные колбы. Компонентный состав питательной среды Эшби приведен в таблице 3.

Таблица 3 – Состав питательной среды Эшби и ее модификаций

Компонент, г/л	Среда Эшби	Модификация вариант 1	Модификация вариант 2
K_2HPO_4		0,2	
KH_2PO_4		0,2	
$MgSO_4$		0,2	
NaCl		0,2	
K_2SO_4		0,2	
$CaCO_3$		5,0	
Маннит	-	-	20
Глюкоза	-	20	-
Сахароза	20	-	-
Вода дистиллированная, мл	974	974	974

Значение pH доводили до $7,0 \pm 0,02$ при 24–25 °С.

Молочнокислые микроорганизмы восстанавливали в гидролизованном молоке, затем на жидкой среде Эллингера в течении 24 часов при температуре 30 °С. Подсчет производили на питательной селективной модифицированной среде МРС и агаре с мелом. Окрашивание для контроля морфологической однородности культуры проводилось по Грамму и фуксином. Все исследования проводили по ГОСТ 10444.11-2013.

Гидролизованное молоко получали путем разведения 1 части обезжиренного молока на 2 части воды. Устанавливали pH $7,6 \pm 0,2$, далее в 1 л молока, температурой 45 °С, добавляли 1 г сухого порошка панкреатина, предварительно разведенного в небольшом количестве теплой воды. Через пару минут в смесь добавляли 5 мл хлороформа. Колбу закрывали пробкой и помещали в термостат на 72 ч при 40 °С. В течение первых часов эту смесь несколько раз перемешивали (после встряхивания для удаления паров хлороформа пробку вынимали). Через 72 ч колбу вынимали и гидролизат фильтровали

через бумажный фильтр, устанавливая pH $7,2 \pm 0,2$ [152]. Агар из гидролизованного молока [30].

Характеристика компонентов, входящих в состав питательных сред для пропионовокислых и молочнокислых микроорганизмов: бульона Эллингера, питательной среды MRS (Man, Rogosa, Sharpe), Tomato Juice Agar (ATCC Medium 33) и Trypticase Yeast Extract Glucose Medium представлена в таблице 4. Значение pH измеряли при температуре 25 °С, в случае несоответствия требованиям pH доводили уксусной кислотой или гидроксидом натрия. Все среды стерилизовали в автоклаве 15 мин 120 °С.

Таблица 4 – Приготовление стандартных питательных сред для пропионовокислых и молочнокислых микроорганизмов.

Среда	Бульона Эллингера	Tomato Juice Agar (ATCC Medium 33)	MRS (Man, Rogosa, Sharpe)	Trypticase Yeast Extract Glucose Medium
Компонент, г	Количество на 1 л			
Агар		11,0	18,0	
Аскорбиновая кислота	2,5			
Ацетат натрия	1,5		5,0	
Бромкрезоловый зеленый			0,04	
Гидрокарбонат натрия				1,0
Глюкоза	5,0		20,0	10,0
Двузамещенный фосфат калия				6,8
Дрожжевой экстракт	5,0	10,0	5,0	5,0
Желатин	2,5			
Магний сернокислый			0,15	
Калий фосфорнокислый			5,4	
Лактоза	5,0			
Натрий хлористый	4,0			0,02
Натрий формальдегидсульфоксилат				0,5
Пептон ферментезированный			10,0	
Панкреатический перевар казеина	20,0	10,0		10,0
Сахароза	5,0			
Сульфат магния				0,02
Твин 80				0,5
Томатный сок, фильтрованный, мл		200,0	100,0	
Хлористый кальций				0,02
Цитрат аммония			2,0	
pH	$6,5 \pm 0,01$	$6,5 \pm 0,01$	$7,2 \pm 0,02$	$7,2 \pm 0,02$

Среда Сабуро для культивирования дрожжей. Состав (в пересчете на 1 л готовой среды): пептон ферментативный сухой – 7,0 г, гидролизат соевой муки

ферментативный – 3,0 г, глюкоза кристаллическая гидратная – 40,0 г, экстракт автолизированных дрожжей осветленный – 4,0 г, агар микробиологический (для плотной среды) – 12,0 г. Компоненты вносили на 1 л воды, кипятили 15 мин, значение рН доводили до $5,8 \pm 0,2$ при 24–25 °С, фильтровали [147].

Для проведения выявления бактерии группы кишечной палочки, дрожжевых и плесневых клеток был подготовлен опыт по ГОСТ 10444.12-2013. Изучение проводили на стандартных средах для анализа – среда Кесслер темно-фиолетовой окраски и среда Кода. Брали 16 г сухой питательной среды Кесслер, желто-зеленой окраски, изготовленной по ТУ 9291-155-00008064-97, вносили в 1 дм³ воды, кипятили 25 мин, доводили до начального объема, фильтровали через ватный фильтр. Разливали по 5 см³ в пробирки со стеклянными поплавками и стерилизовали 20 минут при 120 °С. Параллельно брали 40 г сухой питательной среды Кода, изготовленной по ТУ 9291-091-04610209-2000 на 1 дм³ воды, кипятили 3 мин до полного растворения компонентов, фильтровали через ватный фильтр, разливали по 5 см³ в пробирки и стерилизовали 20 минут, 120 °С. Далее в пробирки, содержащие по 5 см³ среды Кода и параллельно в аналогичный объем среды Кесслер, вносили по 5 см³ испытуемой закваски стерильной пипеткой вместимостью 5–10 см³. Выращивали при 37 °С, 19 ч.

На третьем этапе нами был проведен анализ полученной закваски на вторичных продуктах переработки, а именно: лузга подсолнечная, ботва зеленого горошка, виноградные выжимки, дробина пивная, жмых подсолнечный, зеленый корм, зерновые отходы, кукурузная мезга, соевая окара, свекловичный жом, томатные выжимки, тыквенные выжимки, фуз подсолнечный, яблочные выжимки. Используемые нами методики биохимической оценки растительного сырья, субстратов, заквасок, биодобавки, а также опытов на птице:

Титруемую кислотность определяли по ГОСТ ISO 750-2013. Содержание аммиачного азота и рН среды определяли по ГОСТ 26180-84. Содержание сырой клетчатки определяли по ГОСТ 31675-2012. Содержание влажности определяли по ГОСТ Р 57059-2016. Содержание сырого жира определяли по ГОСТ 32905-2014. Содержание золы определяли по ГОСТ 32933-2014. Содержание сырого

протеина определяли по ГОСТ 13496.4-2019. Определение безазотистых экстрактивных веществ определяли вычитанием из общей массы питательных веществ (100 %) содержание сырого протеина, жира, клетчатки, золы и воды. Углеводы определяли по ГОСТ 26176-91.

Содержание каротина определяли по ГОСТ 13496.17-95. Содержание жирорастворимых витаминов определяли ГОСТ 32043-2012. Содержание витамина В₂ определялось по ГОСТ 32042-2012. Содержание витамина В₁₂ определялось по ГОСТ Р 57201-2016. Содержание кальция определяли по ГОСТ 26570-95. Содержание фосфора определяли по ГОСТ 26657-97.

Определение кожно-резорбтивного и раздражающего действия. Определение острой и хронической токсичности. Экспресс-метод определения токсичности на стиломах по ГОСТ 31674-2012. Безвредность исследуемых культур *in vivo* изучали на лабораторных белых мышах. Наблюдение за лабораторными животными проводили в течение пяти дней [77].

Научно-хозяйственный и производственный опыт на перепелах.

Далее проводили научно-хозяйственные опыты и производственную апробацию полученной функциональной биодобавки на лучшем субстрате.

В первом лабораторном опыте изучалась возможность использования функциональной биодобавки в рационах перепелов и подбор концентрации добавления в рацион. Продолжительность опыта составила 49 дней. Для проведения опыта в суточном возрасте методом случайной выборки было отобрано 120 перепелов породы Фараон и сформировано 8 групп по 15 голов. Кормление контрольной группы осуществлялось полнорационным комбикормом, а в опытных группах была введена функциональная биодобавка на основе пропионовокислых микроорганизмов и азотобактера, в составе полнорационного комбикорма, в количестве от 1 до 4 % с интервалом 0,5 %.

Второй научно-производственный опыт по кормлению перепелов проведен по схеме, представленной в таблице 5. Для проведения опыта были взяты перепела Техасской белой породы в количестве 150 голов новорожденных перепелят, посажены в клетки по 50 голов (3 группы), в 2 клетки (25 голов в

одной клетке). Продолжительность опыта составила 56 дней. Контрольной группе скармливали полнорационный комбикорм. Опытным группам к основному рациону добавляли исследуемые биодобавки согласно лучшим результатам первого опыта, в соответствующих процентных соотношениях взамен 1 % пшеницы и 1 % кукурузы: с рождения до 21 суток, 1 % пшеницы и 1,5 % кукурузы с 21 по 42 сутки и 1,5 % пшеницы и 1,5 % кукурузы после 42 суток в составе корма, по схеме: с рождения до 21 суток полнорационный комбикорм (ПК) с добавлением 2 % биодобавки на основе пропионовокислых микроорганизмов и азотобактера (биодобавка Ппш + Аз) в составе ПК, с 21 по 42 сутки добавляли 2,5 % биодобавки Ппш + Аз в состав ПК, после 42 суток добавляли 3 % биодобавки Ппш + Аз в составе ПК. 2-й опытной группе давали с рождения до 21 суток ПК с добавлением 2 % кормовой биодобавки на основе пропионовокислых микроорганизмов (биодобавка Ппш) в составе ПК, с 21 по 42 сутки добавляли 2,5 % биодобавки Ппш в состав ПК, после 42 суток добавляли 3 % биодобавки Ппш в состав ПК. Кормление всех групп осуществлялось 2 раза в сутки.

Лучший результат, после проведения двух научно-хозяйственных опытов был положен в основу производственного испытания, проведенного на двух группах перепелов по 300 голов в каждой. Первая получала стандартный полнорационный комбикорм, 2-й добавляли биодобавку на основе пропионовокислых микроорганизмов и азотобактера (биодобавка Ппш + Аз), по схеме, описанной выше. Перепелов содержали в клетках с обогревом до 14 суток, ширина клетки – 150 см, глубина 60 см, высота до 40 см. Передняя стенка съемная, из сетки с ячейкой 5x5 мм, пол сетчатый – из сетки с ячейкой 1x1 см, под ним поддон для сбора помета. Первую неделю пол застилали пленкой. В одной части клетки была размещена лампа для обогрева, у другой стены – кормушки и автоматическая поилка на банке. После 14 суток птицу пересаживали в клетки без обогрева из плотной оцинкованной сетки, длиной 45 см, глубиной 45 см, высотой 25 см и наклонным полом под углом 7° для сбора яиц в покатый желоб,

оборудованные кормушками, поилками, а также легким поддоном из оцинкованного металла для сбора помета.

Схемы научно-хозяйственных опытов и производственного испытания приведены в таблице 5.

Таблица 5 – Схемы научно-хозяйственных опытов

Группа	Голов	Характеристика кормления
Научно-хозяйственный опыт 1		
1-я	15	Полнорационный комбикорм (ПК)
2-я	15	1,0 % биодобавки ППш + Аз в составе ПК
3-я	15	1,5 % биодобавки ППш + Аз в составе ПК
4-я	15	2,0 % биодобавки ППш + Аз в составе ПК
5-я	15	2,5 % биодобавки ППш + Аз в составе ПК
6-я	15	3,0 % биодобавки ППш + Аз в составе ПК
7-я	15	3,5 % биодобавки ППш + Аз в составе ПК
8-я	15	4,0 % биодобавки ППш + Аз в составе ПК
Научно-хозяйственный опыт 2		
1-я	50	Полнорационный комбикорм (ПК)
2-я	50	2 % биодобавки ППш в составе ПК с 0 по 21 сут
		2,5 % биодобавки ППш в составе ПК с 22 по 42 сут
		3 % биодобавки ППш в составе ПК после 42 сут
3-я	50	2 % биодобавки ППш + Аз в составе ПК с 0 по 21 сут
		2,5 % биодобавки ППш + Аз в составе ПК с 22 по 42 сут
		3 % биодобавки ППш + Аз в составе ПК после 42 сут
Производственное испытание		
1-я	300	Полнорационный комбикорм (ПК)
2-я	300	ОР + 2 % биодобавки ППш + Аз в составе ПК с 0 по 21 сут
		ОР + 2,5 % биодобавки ППш + Аз в составе ПК с 22 по 42 сут
		ОР + 3 % биодобавки ППш + Аз в составе ПК, после 42 сут

В процессе выращивания поддерживали температуру согласно схеме, описанной в таблице 6.

Таблица 6 – Температурный режим выращивания перепелов

Дни выращивания	Температура в клетках (°С)	Температура в помещении (°С)
1 – 7	35 – 36	27 – 29
8 – 14	30 – 32	25 – 26
15 – 21	24 – 26	24 – 26
22 – 42	20 – 22	20 – 22

Около половины всех затрат животноводства составляют затраты на корма. Прибыльность животноводческой отрасли очень сильно зависит от правильного с точки зрения физиологии животного и экономически выгодного кормления.

Комбикорма, используемые в кормовых смесях для перепелов, составлены по типовым рецептам ГОСТ 18221-2018 «Комбикорма полнораціонные для сельскохозяйственной птицы. Общие технические условия». Для перепелят до 2-недельного возраста кормовые смеси перемалывали.

Основной рацион перепелов используемый в опыте приведен в таблице 7.

Таблица 7 – Основной рацион перепелов используемый в опыте

Наименование	Возраст недель		
	Комбикорм для перепелят 0-21 день	Комбикорм для перепелов 22-42 дня	Комбикорм для родительского стада и несушек перепелов старше 42 дня
Состав рецепта	%	%	%
Пшеница	22,80	25,00	20,00
Кукуруза	34,10	36,50	39,70
Жмых соевый	35,00	30,00	25,00
Ракушка	-	-	4,00
Монокальций фосфат	1,30	1,30	0,70
Мел	2,80	2,80	5,70
Соль поварен.	0,41	0,41	0,41
Лизин	0,17	0,21	0,19
DL-Метионин	0,41	0,35	0,39
Триптофан	0,21	0,18	0,21
Треонин	0,80	0,75	0,70
Биодобавка (ППш+Аз)	2,0	2,5	3,0
Итого	100	100	100

Раздача кормов производилась вручную. Нормы кормления и содержания перепелов, принимали в соответствии с рекомендациями проведения опыта ВНИТИП [46].

Для того чтобы составить реалистичный и сбалансированный рацион, необходимо знать количество употребляемого корма, концентрацию питательных веществ в кормах и продуктивность животных.

В таблице 8 приведена питательная ценность основного комбикорма, используемого в опыте.

Таблица 8 – Питательная ценность комбикорма

Показатель	Возраст недель		
	Комбикорм для перепелят 0-21 день	Комбикорм для перепелов 22-42 дня	Комбикорм для родительского стада и несушек перепелов старше 42 дня
Обменная энергия птицы, МДж	12,40	12,60	11,80
Сырой протеин, %	22,23	20,64	18,52
Сырая клетчатка, %	5,05	4,50	4,92
Лизин, г/кг	1,30	1,20	1,10
Метионин + цистеин, г/кг	0,95	0,85	0,85
Метионин, г/кг	0,65	0,66	0,50
Кальций, %	1,00	0,90	2,71
Фосфор общий, %	0,72	0,74	0,60
Фосфор усвояемый, %	0,42	0,45	0,35
Натрий, %	0,21	0,21	0,16
Витамин А, МЕ	14000	12000	14000
Витамин В ₁₂ , мкг/100 г	25	30	35
Витамин Е, мг/100 г	45	35	65

Понятие перевариваемости – из съеденного количества корма часть выделяется с навозом. Та часть корма, которая не выделилась с навозом определяется как перевариваемая. Выраженная в процентах перевариваемость является коэффициентом перевариваемости.

Влияние функциональной биодобавки на переваримость питательных веществ корма изучали путем балансового опыта и высчитывали по формуле 1:

$$\text{КП} = (\text{ПВ пер} / \text{ПВ прин}) \times 100 \quad (1)$$

где, КП – коэффициент переваримости

ПВ пер–переваренные питательные вещества

ПВ прин–принятые питательные вещества

Анализ крови проводили на биохимические и морфологические показатели на биохимическом анализаторе «Vitalab Flexor Junior» и гематологическом анализаторе «Medonic SA620». Кровь собирали при убое, в пробирки с антикоагулирующим веществом. Лейкоформулу считали в мазках, окрашенных по Романовскому-Гимза.

Изучалось влияние разработанных функциональных биодобавок на мясную продуктивность птицы, качество мяса перепелов. Проводили полную анатомическую разделку и оценивали убойные качества. Для изучения мясных качеств производили убой в соответствии с методикой контрольного убоя и обвалки туш по ГОСТ 7702.2.0-2016 с полной анатомической разделкой тушек. Мясо перепелов (тушки) разделявали и проводили изучение по ГОСТ 31490-2012 и ГОСТ Р 54673-2011. Энергетическую ценность рассчитывали по формуле, исходя из данных, что 1 г жира содержит 9 ккал, а 1 г белка содержит 4 ккал. Содержание белка определяли по ГОСТ 25011-81, содержание жира определяли по ГОСТ 23042-2015, содержания золы определяли в соответствии с ГОСТ 31727-2012 (ISO 936:1998), содержание влаги определяли по ГОСТ 33319-2015. Органолептические показатели мяса перепелов исследовали в соответствии с ГОСТ Р 51944-2002.

Анализ микрофлоры проводился на определении общего микробного числа, а также колониеобразующих единиц лактобактерий, проводился в соответствии с ГОСТ 10444.15-94, методом серийных разведений на мясо-пептонном агаре и лактобакагаре. Анализ на общее число грибов – в соответствии с ГОСТ 10444.12-2013. Для этого 1 мл содержимого слепых отростков кишечника перепелов разводили в 9 мл физиологического раствора хлористого натрия и из десятикратных разведений до 10–11 степени, делали глубинный посев 0,1 мл суспензии на мясо-пептонном агаре и лактобакагаре. Выращивание в обоих случаях проводили в термостате при температуре 37,5 °С. Через 24 часа инкубации считали колонии, выросшие на мясо-пептонном агаре, через 48 часов на лактобакагаре. Метод определения патогенной микрофлоры проводили по ГОСТ Р 54374-2011.

Биометрическая обработка производилась с помощью программного обеспечения Microsoft®, фирмы Carl Zeiss®, статистически достоверными считались различия при $P < 0,05$. Определение отклонений проводилось по ГОСТ Р 54502-2011/ISO/TS 19036:2006. Критерий достоверности определяли по таблице Стьюдента.

3 РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

Работу проводили на базе ФГБОУ ВО КубГАУ им. И.Т. Трубилина в период с 2014 по 2020 гг.

Ожидаемые результаты научного исследования: в качестве конечного результата диссертационного исследования будет получена инновационная функциональная биодобавка – иммуностимулятор микробного происхождения, изготовленный методом культивирования бактериальной массы пропионовокислых бактерий, а также в нем будут дезодорирующие свойства за счет применения азотобактера.

В результате проведенных исследований будут полученные новые научные сведения по использованию пропионовокислых бактерий и азотобактера в птицеводстве.

Разрабатываемые биопрепараты расширят ассортимент препаратов пробиотической группы на российском рынке, позволят изучить методики научных исследований, а также увеличат производство экологически безопасной для населения РФ продукции, в том числе птицеводства.

3.1 Биохимический и биотехнологический мониторинг консорциумов микроорганизмов и оценка эффективности различных вариантов сред при выращивании главных пробиотических культур

3.1.1 Скрининг штаммов микроорганизмов для получения функционального функциональной биодобавки синбиотика

Первым объектом исследования служит концентрат бактериальный лиофилизированный пропионовокислых бактерий ППШ. Предназначен для ферментированных продуктов. Изготовлен по ТУ 9229-402-04610209-2002. Разрабатывали биотехнологический способ активизации пропионовокислых бактерий на питательных средах с добавлением томатного сока, без добавления стимуляторов роста. После активизации культур определяли биохимическую

активность, по кислотообразующей способности, а так же количеству клеток пропионовокислых бактерий при ферментации. Получены данные, показывающие высокую биохимическую активность, лучше сквашивание шло при температуре 30 ± 1 °С за 10–12 ч. В случае ферментирования микроорганизмов при 20 ± 1 °С происходило снижение биохимической активности, и увеличение продолжительности сквашивания до 16–18 ч. Количество клеток к концу ферментации (на 5–7 сутки) в первом случае достигало 3×10^9 в 1 см^3 , а во втором 1×10^7 в 1 см^3 .

Также в результате проведенных исследований было установлено, что при определении структурно-механических и синергетических свойств сгустков при температуре 30 ± 1 °С концентрат пропионовокислых бактерий обладает более вязкой консистенцией, а также высокой влагоудерживающей способностью, и в такой технологии выращивания показывает хорошие титры жизнеспособных клеток.

При разработке питательных сред мы анализировали питательные потребности пропионовокислых микроорганизмов, в конечном итоге нами были выбраны томатный сок, глюкоза, кукурузный сироп, пептон и дрожжевой экстракт. Эти компоненты насыщают питательную среду необходимыми веществами, витаминно-минеральный состав готовой среды благоприятно действует на штаммы пропионовокислых микроорганизмов, является экономически выгодным.

Дополнительно был проведен скрининг *Propionibacterium freudenreichii subsp. shermanii* с целью изучения их устойчивости к кислой реакции среды – кислотному стрессу. В качестве контроля использовали среду с $\text{pH}=6$, получены титры 4×10^{11} КОЕ/ см^3 . В опытной питательной среде доводили pH до 2 с помощью соляной кислоты и получили следующие результаты: через 1,5 часа $1,6 \times 10^7$ КОЕ/ см^3 , через 3 часа $3,2 \times 10^5$ КОЕ/ см^3 , через 4,5 часа $4,1 \times 10^4$ КОЕ/ см^3 .

Таким образом, можно сделать вывод о отличной выживаемости в желудочно-кишечном тракте штамма *Propionibacterium freudenreichii subsp. shermanii* благодаря адаптивным свойствам к кислотному стрессу в зонах с кислой

реакцией среды. Однако, выдержка в течение более чем 5 часов приводит к гибели культур.

Результаты апробации разработанной закваски и заквасок на стандартных средах приведены на рисунке 4. Показана динамика накопления биомассы бактериями пропионовокислых микроорганизмов посуточно.



Рисунок 4 – Влияние питательных сред на количество микроорганизмов

До пятых суток идет накопление биомассы во всех средах, лучше микроорганизмы растут на средах Trypticase Yeast Extract Glucose Medium (TYEGM) и №4. На среде ATCC Medium 33 наблюдается значительное отставание прироста. После пятых суток биомасса микроорганизмов продолжала накапливаться в TYEGM, в среде №4 интенсивность накопления значительно упала, а в среде ATCC Medium 33 происходило резкое снижение титра колонии живых клеток. На шестые и седьмые сутки рост микроорганизмов практически остановился. Следовательно стоит накапливать биомассу в течении 5 суток. Закваска на среде ATCC Medium 33 показала наихудшие результаты, что делает её применение бессмысленным. Закваска на среде TYEGM показала наилучшие результаты. Исследуемая закваска на среде №4 по накоплению биомассы отстает

от нее, но, учитывая более простой состав и меньшую стоимость ингредиентов, её использование целесообразно.

В результате проведенных исследований был разработан способ активизации *Propionibacterium freudenreichii subsp. shermanii* в питательной среде на основе томатного сока, благодаря чему появились новые концентрированные закваски пропионовокислых бактерии с высокой биохимической активностью, т.е. активно ферментирующие молоко и пищевые среды без стимуляторов роста. Преимущества, связанные со сквашиванием сырья, заключаются в высокой степени витаминизации получаемых продуктов и максимальном насыщении их полезными метаболитами пропионовокислых бактерий.

На втором этапе исследования нами был проведен подбор штаммов микроорганизмов для создания эффективного синбиотического консорциума и анализ свойств полученных консорциумов. Для создания наиболее перспективного консорциума были выбраны несколько вариантов микроорганизмов: молочнокислые, дрожжи и азотобактер.

Первым был взят концентрат бактериальный лиофилизированный Пх (л), обладающий гидрофильностью 88 %, влажностью 4 % и содержащий не менее 10^9 КОЕ в 1 см^3 .

Восстановление его из лиофилизированной формы и культивирование проводили по стандартной методике. В дальнейшем проанализировали совместное культивирование с *Propionibacterium shermanii* (ППш) на питательной среде № 4, показавшей себя лучшей для пропионовокислых микроорганизмов. Результаты приведены ниже, в таблице 9.

Следующим микробным объектом исследования выбраны дрожжи хлебопекарные быстродействующие (инстантные) сухие производства национального биоресурсного центра Всероссийской коллекции промышленных микроорганизмов – БРЦ ВКПМ «ГосНИИгенетика» Минобрнауки России, расположенный по адресу г. Москва, 1-ый Дорожный проезд, 1. Не содержат ГМО и казеина, а только грибы класса *Saccharomyces cerevisiae*.

В качестве сырья при производстве закваски для маточной культуры дрожжей, а также питательной среды выбраны такие ингредиенты, как меласса, а также мелассная бражка, азотсодержащие соли, фосфорсодержащие соли, агар-агар. Все они являются высококачественными, но в то же время дешевыми компонентами. Ранее использовалась соевая окара, но меласса признана более рентабельной и эффективной. Главными легкоусвояемыми источниками азота для дрожжей служат минеральные соли аммония и мочевины. Кроме того, дрожжи усваивают свободные аминокислоты питательного субстрата. Экстракты, производимые из биомассы дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* – это дешёвое, легко воспроизводимое и безопасное сырьё для получения белковых продуктов.

Состав выбранной нами в процессе исследований питательной среды для производства *Saccharomyces cerevisiae*, г/л: меласса 200, азотсодержащие соли 1,5, фосфорсодержащие соли 1,5, вода 795. Оптимальной была выбрана многоступенчатая технология выращивания посевных дрожжей. На стадии 1 размножение ведут при pH=4,5 в течение 15–17 ч (33 °C) в дрожжерастильном аппарате, используя в качестве питательной среды мелассное сусло (12 % СВ) с добавлением питательных солей. Питательную среду непрерывно аэрируют. На стадии 2 размножения вводят 3 % мелассного раствора от его общего объема и стерильную воду до доведения концентрации сахара 3,0–3,5 %, добавляют 10 % потребляемого количества растворов солей и начинают аэрацию из расчета 30 м³/ч на 1 м³ среды. После этого вводят полученные на стадии 1 дрожжи. По мере потребления сахара производят добавление мелассного раствора, растворов солей, увеличивают скорость подачи воздуха. Продолжительность процесса составляет 9 ч (33 °C), влажность – 75 %. Концентрат хранят при температуре 6 °C, а сухие дрожжи – при 2–4 °C.

Таким образом, из проанализированной литературы нами была выбрана питательная среда на основе мелассы, ввиду ее дешевизны, что позволит существенно снизить затраты, сохранив качество продукта.

И последним выбранным микроорганизмом являлись штаммы *Azotobacter vinelandii* и *chroococcum*. Для получения препарата штаммы выращивают на

безазотистой питательной среде в течение 60 ч при 26–28 °С с аэрацией до титра 10^{10} КОЕ/мл. Эти штаммы были предоставлены из коллекции ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной биотехнологии», Россия, г. Москва, ул. Тимирязевская, д. 42.

В процессе проведения следующего исследования мы подбирали компонентный состав и составляли матрицу для культивирования микроорганизмов рода азотобактер. За основу взяли разработанную питательную среду для пропионовокислых микроорганизмов, показавшую в опытах наилучшие результаты, состав этой среды (г/л): томатный сок – 250, пептон – 5, дрожжевой экстракт – 5, кукурузный сироп – 30. В качестве источника углерода выбрали и сравнивали маннит и сахарозу – по 20 г/л, дополнительно вводили карбонат кальция 10 г/л. Восстановление культуры и разгонку до титров КОЕ 10^{10} производили на среде Берка модифицированного состава (г/л): сахароза – 20, K_2HPO_4 – 0,8, KH_2PO_4 – 0,2, лимоннокислый натрий – 0,5, $MgSO_4$ – 0,2, $CaCl_2$ – 0,1, Fe_2SO_4 – 0,005, Na_2MoO_4 – 0,005.

Подбор и анализ состава питательных сред для *Azotobacter vinelandii* и *chroococcum* производили на орбитальном термостатируемом шейкере, в колбах на 250 мл. Накопительный процесс получения биомассы клеток проходил в течении 72 часов. В герметичных емкостях с объемом 4–10 м³, перемешивающим устройством и аэрирующей системой, оснащенной воздуходувками. Культивирование проводили по следующим основным показателям: температурный оптимум 24–25 °С, аэрация 1–2 л/мин, рН 6,5–7,2. Помимо этого присутствовало постоянное перемешивание с оборотами мешалки 130 об/мин.

Готовая культура микроорганизма в питательной среде представляет собой буроватую, прозрачную жидкость без опалесценции с активной кислотностью рН 6,5–7,2, и едва заметным земляным запахом.

Оптимальное соотношение микроорганизмов в консорциуме выбирали с учетом сбалансированного роста культур. Полученные результаты отражены в таблице 9.

Таблица 9 – Выбор соотношения культур

Культура	Титр жизнеспособных клеток, кое/см ³		
	1 : 1	2 : 1	1 : 2
Соотношение <i>Propionibacterium shermanii</i> и <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	1 : 1	2 : 1	1 : 2
<i>Propionibacterium shermanii</i>	2,4 x 10 ⁸	1,2 x 10 ⁹	3,6 x 10 ⁷
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	3,6 x 10 ⁶	2,2 x 10 ⁷	5,2 x 10 ⁶
Соотношение <i>Propionibacterium shermanii</i> и <i>Lactobacillus acidophilus</i>	1 : 1	2 : 1	1 : 2
<i>Propionibacterium shermanii</i>	2,4 x 10 ⁹	4,4 x 10 ¹⁰	1,7 x 10 ⁹
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	3,5 x 10 ⁹	1,3 x 10 ⁹	2,5 x 10 ¹⁰
Соотношение <i>Propionibacterium shermanii</i> и <i>Azotobacter chroococcum</i>	1 : 1	2 : 1	1 : 2
<i>Propionibacterium shermanii</i>	3,2 x 10 ⁹	5,4 x 10 ¹⁰	4,1 x 10 ⁸
<i>Azotobacter chroococcum</i>	2,1 x 10 ⁷	6,3 x 10 ⁸	3,8 x 10 ⁶
Соотношение <i>Propionibacterium shermanii</i> и <i>Azotobacter vinelandii</i>	1 : 1	2 : 1	1 : 2
<i>Propionibacterium shermanii</i>	2,7 x 10 ⁹	4,3 x 10 ¹⁰	2,6 x 10 ⁸
<i>Azotobacter vinelandii</i>	6,2 x 10 ⁷	3,9 x 10 ⁸	5,7 x 10 ⁶

Данные таблицы свидетельствуют, что сбалансированный рост всех микроорганизмов наблюдается при соотношении *Pr. shermanii* к *L. acidophilus* 1:2. Синбиоз *Pr. shermanii* и *Saccharomyces cerevisiae* не показал хороших результатов.

Совместное культивирование *Pr. shermanii* с *Az. vinelandii*, а также с *Az. chroococcum* дает хорошие результаты при соотношении равном 2:1. Результаты отображены в таблице 10.

Таблица 10 – Количество микроорганизмов в исследуемых средах

Среда	Титр жизнеспособных клеток, КОЕ/см ³		
	<i>Propionibacterium shermanii</i>	<i>Propionibacterium shermanii</i> <i>Azotobacter chroococcum</i> 2 : 1	<i>Propionibacterium shermanii</i> <i>Azotobacter vinelandii</i> 2 : 1
Среда 1	1,6 x 10 ⁹	1,7 x 10 ¹⁰ 2,3 x 10 ⁸	2,3 x 10 ¹⁰ 3,6 x 10 ⁸
Среда 2	0,31 x 10 ⁸	5,5 x 10 ⁹ 3,2 x 10 ⁷	4,8 x 10 ⁹ 6,9 x 10 ⁷
Среда 3	1,3 x 10 ⁸	1,4 x 10 ⁹ 2,5 x 10 ⁷	4,3 x 10 ⁹ 2,9 x 10 ⁷
Среда 4	3,0 x 10 ⁹	6,5 x 10 ¹⁰ 8,6 x 10 ⁸	5,6 x 10 ¹⁰ 4,7 x 10 ⁸
Среда 5	1,9 x 10 ⁸	5,4 x 10 ⁹ 4,7 x 10 ⁷	3,3 x 10 ⁹ 1,5 x 10 ⁷

Изучив синбиотические свойства микроорганизмов, для дальнейших исследований были отобраны штаммы *Pr. shermanii*, *Az. chroococcum* и *Az. vinelandii*. Производилось их дальнейшее культивирование на питательных средах на основе томатного сока с целью биохимического и биотехнологического мониторинга. По результатам данного опыта выяснена положительная динамика роста бактерий при введении в среды томатного сока. При содержании 25 % сока томатов наблюдается ускорение накопления биомассы микроорганизмов, нежели при 15 %. Положительная динамика наблюдалась при введении кукурузного сиропа вместо глюкозы. Для культивирования в дальнейших опытах остановились на среде № 4.

Далее был проведен анализ синбиотических связей азотобактера и пропионовокислых бактерий. В таблице 11 приведено количество жизнеспособных клеток обоих типов в консорциуме

Таблица 11 – Исследование пробиотических микроорганизмов в консорциуме

Показатель	Монокультура <i>Pr. shermanii</i>	В консорциуме в соотношении 1:1	
		<i>Az. vinelandii</i> + <i>Pr. shermanii</i>	<i>Az. chroococcum</i> + <i>Pr. shermanii</i>
Количество клеток азотобактера, КОЕ/см ³	–	3 x 10 ⁷	2 x 10 ⁷
Количество клеток пропионовокислых бактерий, КОЕ/см ³	2 x 10 ⁹	4 x 10 ¹⁰	2 x 10 ¹⁰
Активная кислотность, рН	5,9	5,4	5,3
Титруемая кислотность, °Т	70	74	73

Плотность популяции пробиотических микроорганизмов в консорциуме увеличилась с 10⁹ КОЕ/см³ до 10¹⁰ КОЕ/см³, что свидетельствует о наличии синбиотических связей азотобактера и пропионовокислых бактерий.

Далее было произведено изучение оптимального соотношения штаммов азотобактера и пропионовокислых бактерий (1:1, 1:2, 1:3, 1:4, 1:5). Анализировали активность симбиоза штаммов, по показателям КОЕ жизнеспособных клеток пропионовокислых бактерий и азотобактера изображено на рисунке 5.

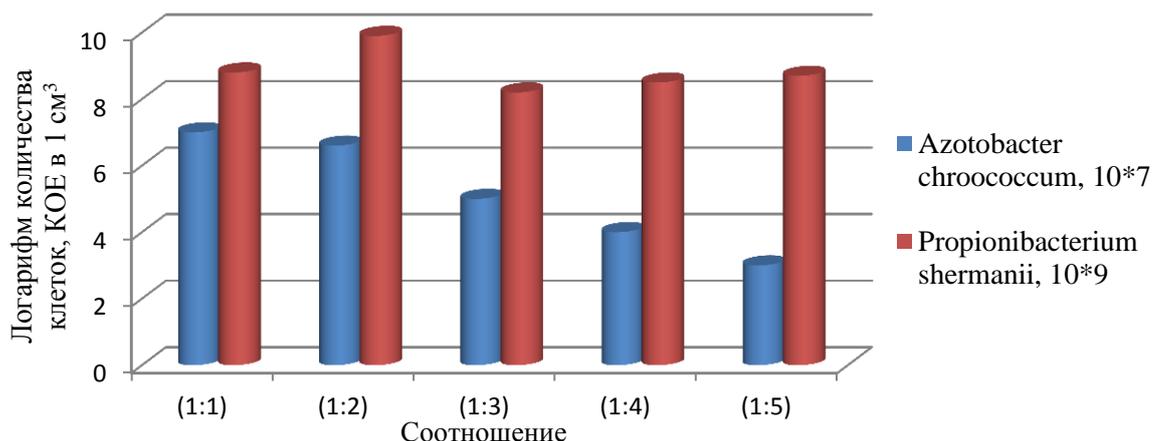


Рисунок 5 – Содержание клеток азотобактера и пропионовокислых бактерий в микробном консорциуме при различных соотношениях

Таким образом исследование показало, что лучшими свойствами обладает микробный консорциум азотобактера и пропионовокислых бактерий в соотношении 1 : 2, что дает и высокие показатели витамина В₁₂, а также показывает положительный синбиотический эффект выбранных штаммов. Получено азотобактера 10⁷ КОЕ/см³, пропионовокислых бактерий 10⁹ КОЕ/см³.

На следующем этапе мы проводили анализ роста азотобактера, используя модифицированную лучшую по результатам прошлого этапа среду № 4. С добавлением маннита и карбоната кальция – среда № 6 и с сахарозой и карбонатом кальция – среда № 7. В качестве контроля брали стандартную среду Берка. В качестве контроля измеряли активную кислотность (рН) и титры КОЕ во всех вариантах. Результаты представлены в таблице 12.

Таблица 12 – Динамика роста *Azotobacter vinelandii* на питательных средах

Культивирование	Продолжительность культивирования, ч	Активная кислотность, рН	Количество живых клеток в 1 см ³
На среде Берка	72	6,67	10 ⁶
	96	6,82	10 ⁷
	120	7,04	10 ⁸
	144	7,20	10 ⁹
На томатной среде с маннитом и карбонатом кальция (Среда №6)	72	6,70	10 ⁵
	96	6,88	10 ⁶
	120	7,09	10 ⁷
	144	7,22	10 ⁸
На томатной среде с сахарозой и карбонатом кальция (Среда №7)	72	6,75	10 ⁴
	96	6,92	10 ⁵
	120	7,06	10 ⁶
	144	7,19	10 ⁷

Полученные питательные среды максимально приближены по уровню рН к рекомендованной для культивирования. При этом титр в 1 см³ меньше, но по стоимости питательная среда дешевле в разы, а значит титр разрабатываемой нами функциональной биодобавки экономически более выгодны.

Далее проводили анализ и исследования консорциума штаммов *Propionibacterium shermanii* с *Azotobacter vinelandii*. Следует отметить, что антимикробный эффект пробиотических культур при синбиотических отношениях возрастает. В таблице 13 приведены показатели антибиотической активности заквасок азотобактера, пропионовокислых бактерий и их комбинированной закваски.

Таблица 13 – Антибиотическая активность заквасок

Вид закваски	Антибиотическая активность			
	<i>E.coli</i>		<i>S.aureus</i>	
	Бактерицид-ное действие	Бактериостати-ческое действие	Бактерицид-ное действие	Бактериостати-ческое действие
Азотобактер	1:4	1:16	1:4	1:32
Пропионовокислые бактерии	1:4	1:32	1:4	1:64
Комбинированная закваска	1:8	1:64	1:8	1:128*

Примечание: * Серийные разведения препарата (двукратные – 1:2, 1:4, 1:8, 1:16, 1:32, 1:64, 1:128)

Данные таблицы 13 свидетельствуют, что антимикробный эффект пробиотических бактерий усиливается при синбиотических взаимоотношениях.

Результаты подсчета количества колоний микроорганизмов в исследуемой среде при различных рН представлены на рисунке 6.

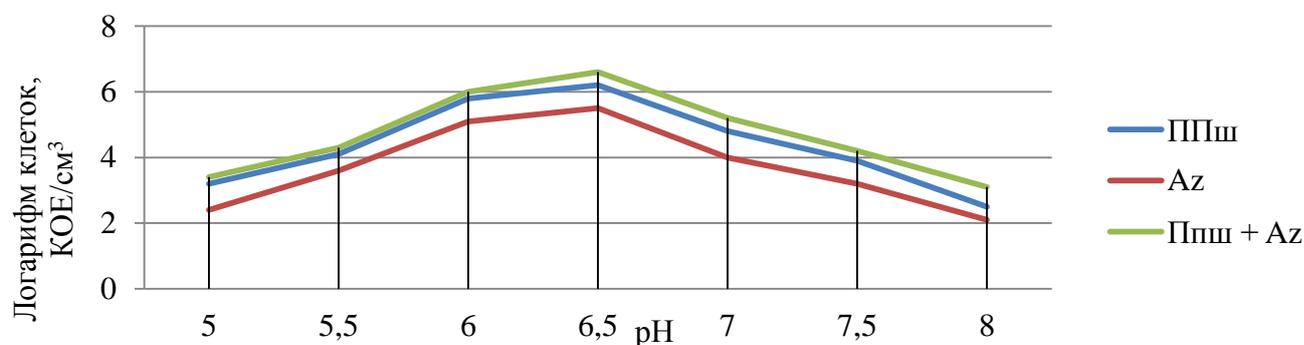


Рисунок 6 – Динамика накопления биомассы пропионовокислыми микроорганизмами и азотобактера в зависимости от рН среды

Таким образом, приемлемые значения рН для накопления микробиотического консорциума от 5,5 до 7, наилучшие показатели наблюдались при 6×10^9 КОЕ рН = 6,5.

При сравнительном анализе сред № 4 и № 6 определяли на титры КОЕ отдельно каждого микроорганизма и активную кислотность (рН). Результаты представлены в таблице 14.

Таблица 14 – Динамика роста бактерий в средах

Наименование штамма и среды	Продолжительность культивирования, ч	Активная кислотность, рН	Количество живых клеток в 1 см ³
<i>Propionibacterium</i> на стандартной среде Эллингера	72	4,73	$1,8 \times 10^7$
	96	4,71	$5,3 \times 10^8$
	120	4,69	$1,6 \times 10^9$
	144	4,67	$4,0 \times 10^9$
<i>Propionibacterium</i> на среде №4	72	4,89	$1,6 \times 10^8$
	96	4,85	$7,1 \times 10^8$
	120	4,81	$1,9 \times 10^9$
	144	4,79	$6,5 \times 10^9$
<i>Propionibacterium</i> на среде №6	72	7,19	$2,2 \times 10^8$
	96	7,05	$7,9 \times 10^8$
	120	6,88	$3,8 \times 10^9$
	144	6,69	$8,5 \times 10^9$
<i>Azotobacter</i> на стандартной среде Эшби	72	4,73	$2,3 \times 10^8$
	96	4,71	$4,6 \times 10^8$
	120	4,69	$1,2 \times 10^9$
	144	4,67	$3,1 \times 10^9$
<i>Azotobacter</i> на среде №4	72	4,89	$1,3 \times 10^6$
	96	4,85	$2,5 \times 10^7$
	120	4,81	$5,9 \times 10^7$
	144	4,79	$9,4 \times 10^7$
<i>Azotobacter</i> на среде №6	72	7,19	$4,3 \times 10^7$
	96	7,05	$9,8 \times 10^7$
	120	6,88	$1,7 \times 10^8$
	144	6,69	$4,9 \times 10^8$

Таким образом, среда № 6 дает лучшие результаты по накоплению биомассы штаммами микроорганизмов и более высокие значения рН, относительно среды № 4, что благоприятно влияет на накопление биомассы микроорганизмами. Далее продолжим опыты со средой № 6.

Микроскопическая картина исследования приведена на рисунках 7–9.

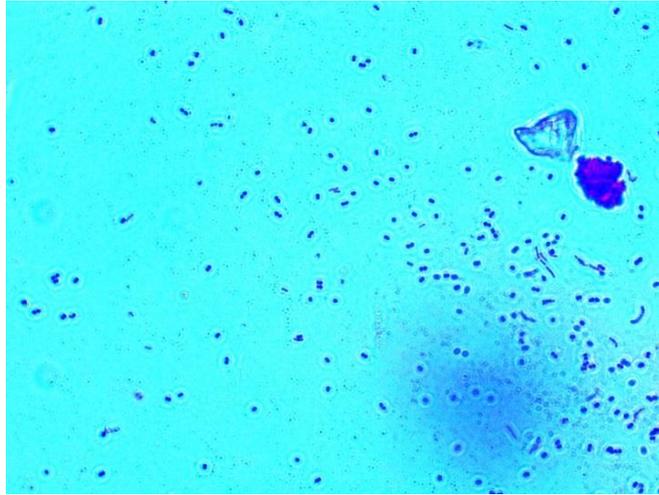


Рисунок 7 – Культура *Propionibacterium shermanii*

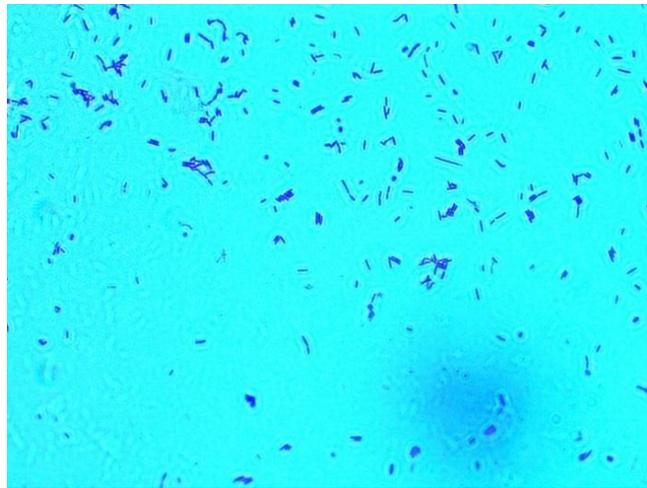


Рисунок 8 – Культура *Azotobacter vinelandii*

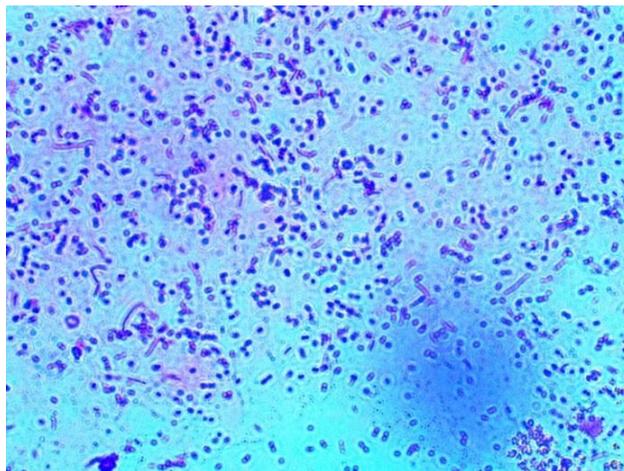


Рисунок 9 – Культуры *Propionibacterium shermanii* и *Azotobacter vinelandii* в консорциуме

Окончательный состав закваски для получения биодобавки приведен в таблице 15.

Таблица 15 – Компонентный состав закваски для получения биодобавки

Показатель	Значение
Томатный сок, мл/л	250
Кукурузный сироп, мл/л	30
Пептон, г/л	5
Дрожжевой экстракт, г/л	5
Маннит, г/л	20
Кальция карбонат, г/л	10
<i>Propionibacterium shermanii</i> , КОЕ	$4,3 \times 10^{10}$
<i>Azotobacter vinelandii</i> , КОЕ	$3,9 \times 10^8$

3.1.2 Основные микробиологические и биотехнологические аспекты получения и оценки качества синбиотической биодобавки на субстратах

Оценку эффективности применения функциональной биодобавки производили на различных субстратах, остающихся на перерабатывающих заводах и хозяйствах Краснодарского края.

Проделана работа со свекловичным жомом. Проведено заквашивание в течении 7 суток в термостате при 30 °С без доступа кислорода в закрытой таре. Проведённые анализы показали, что заквашенный жом имеет мало белка и жира, много энергии и среднее количество сырой клетчатки. Основу сырой клетчатки составляют целлюлоза и пектин, которые очень важны для обеспечения нормальной работы ЖКТ. Физико-химические показатели заквашенного нами жома: вода 79,6 %, белок 1,2 %, жир 0,3 %, углеводы 6,9 %, клетчатка 2,5 %, зола 0,8 %. Опытным путем также выяснено, что заквашенный жом поедается птицей более охотно, чем свежий. Полученная нами кормовая биодобавка станет эффективным решением проблемы составления качественно полноценных рационов в хозяйствах. Получены титры $3,7 \times 10^9$ КОЕ/см³, на 5 сутки сохранность 90 % живых клеток относительно начальных титров.

Далее был проведен опыт на подсолнечном жмыхе. Эксперимент по определения активной кислотности основан на измерении потенциометрическим методом с применением стеклянного электрода рН в субстратах, с доведением до нужных значений гидроокисью натрия или соляной кислотой. Для исследования эффективности культивирования были взяты значения рН от 5 до 8 с

интервалом 0,5, на 5 сутки. Для сквашивания подсолнечного жмыха вносили в него закваску в количестве 5 %. Ставили в термостат при 30 °С, и ежедневно производили отбор проб каждого образца, разведение и посев на плотную среду Merck в пятикратной повторности. Ежедневно в течение 7 дней был произведён подсчет колоний микроорганизмов. Вычислены средние результаты. Исходя из результатов, можно сделать вывод о том, что до 5 дня происходит интенсивное накопление биомассы микроорганизмов, на 5 день её пик, после чего интенсивность значительно падает. Следовательно стоит накапливать биомассу в течении 5 дней. Получены титры $2,4 \times 10^8$ КОЕ/см³, на 5 сутки сохранность 80 % живых клеток относительно начальных титров.

Следующим в качестве вторичных отходов переработки использовали яблочные выжимки. Смешивали с водой, в качестве консерванта использовали 1 % раствор соли – контрольное заквашивание. Смешивали с яблочным соком, в качестве консерванта использовали 1 % раствор соли. Смешивали с яблочным соком и 1 % раствором бишофита. Смешивали с водой и 1 % раствором бишофита. Смешивали с яблочным соком и закваской и 1 % раствором бишофита. Замена соли на бишофит дает положительные результаты, лучше сквашивание яблочных выжимок проходит в варианте 5, в присутствии сока, бишофита и закваски. Получены титры $1,7 \times 10^9$ КОЕ/см³, на 5 сутки сохранность 90 % живых клеток относительно начальных титров.

Также в процессе проведения диссертационной работы рассмотрены другие субстраты, результаты опытов на лузге подсолнечника, соевой окаре, томатных выжимках, ботве зеленого горошка, тыквенных выжимках, кукурузной мезге, гидропонной зелени показали результаты хуже, ознакомиться с ними можно в публикациях и монографии по теме.

По результатам этого опыта можно сделать вывод о том, что полученная нами функциональная биодобавка подходит для сквашивания вторичных продуктов переработки, наилучшие результаты показала пивная дробина, хуже накопление биомассы шло на лузге подсолнечника.

Далее мы проводили анализ содержания клеток микроорганизмов в различных вторичных продуктах переработки, по истечению 5 суток после внесения культуры считали количество клеток, результаты представлены в таблице 16.

Таблица 16 – Содержание клеток микроорганизмов в субстратах относительно засевной культуры

№ п/п	Субстрат + биодобавка	Клетки КОЕ/мл на 1 сутки	% живых клеток относительно начальных титров на 5 сутки
1	Лузга подсолнечная	$5,6 \times 10^4$	35
2	Ботва зеленого горошка	$2,1 \times 10^8$	75
3	Виноградные выжимки	$3,7 \times 10^6$	60
4	Дробина пивная	$5,2 \times 10^9$	95
5	Жмых подсолнечный	$2,4 \times 10^8$	80
6	Зеленый корм (гидропонная зелень)	$2,3 \times 10^7$	75
7	Зерновые отходы	$1,1 \times 10^7$	65
8	Кукурузная мезга	$3,4 \times 10^7$	70
9	Соевая окара	$1,0 \times 10^9$	95
10	Свекловичный жом	$3,7 \times 10^9$	90
11	Томатные выжимки	$5,2 \times 10^8$	85
12	Тыквенные выжимки	$2,2 \times 10^8$	80
13	Фуз подсолнечный	$3,9 \times 10^7$	70
14	Яблочные выжимки	$1,7 \times 10^9$	90

В качестве основного сырья для кормовой биодобавки была выбрана пивная дробина, показавшая лучшие результаты по итогам опытов, и была более подробно исследована. Выяснено, что она имеет диетическое действие, предотвращает и лечит нарушения работы пищеварительного тракта, абсолютно позитивно влияет на обмен веществ. Белок в пивной дробице является стабильным в пищеварительном тракте. Также нами производился анализ влияния значений рН исследуемой среды на накопление биомассы на пивной дробице. На рисунке 10 приведена диаграмма динамики роста микроорганизмов на субстрате при различных значениях рН.

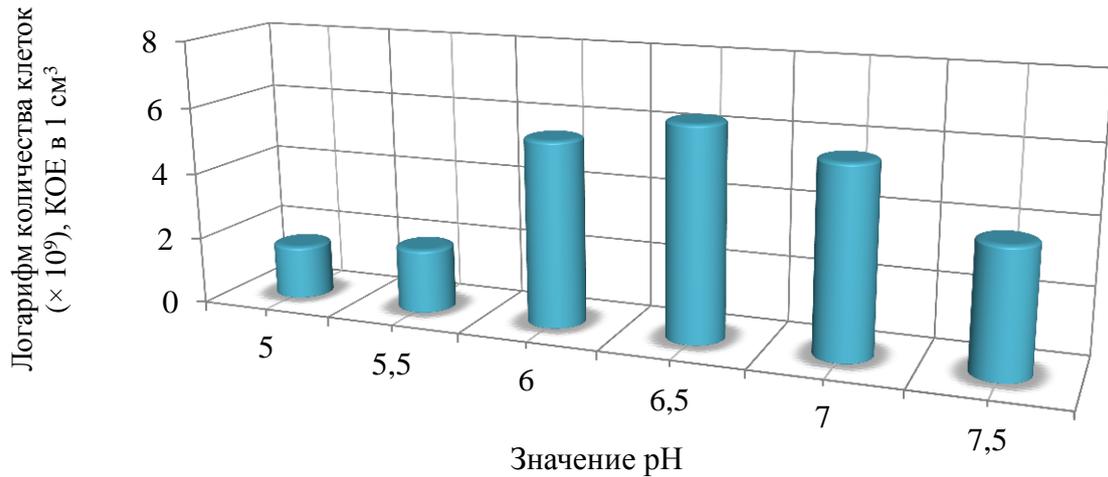


Рисунок 10 – Рост микроорганизмов при различных значениях pH

По результатам проведённого опыта можно сделать вывод, что пик накопления биомассы составил 6×10^9 КОЕ и происходил при pH 6,5. При pH выше 7 или ниже 6 накопление биомассы нецелесообразно.

Влияние различных доз закваски на динамику роста микроорганизмов при внесении на пивную дробину показана на рисунке 11.

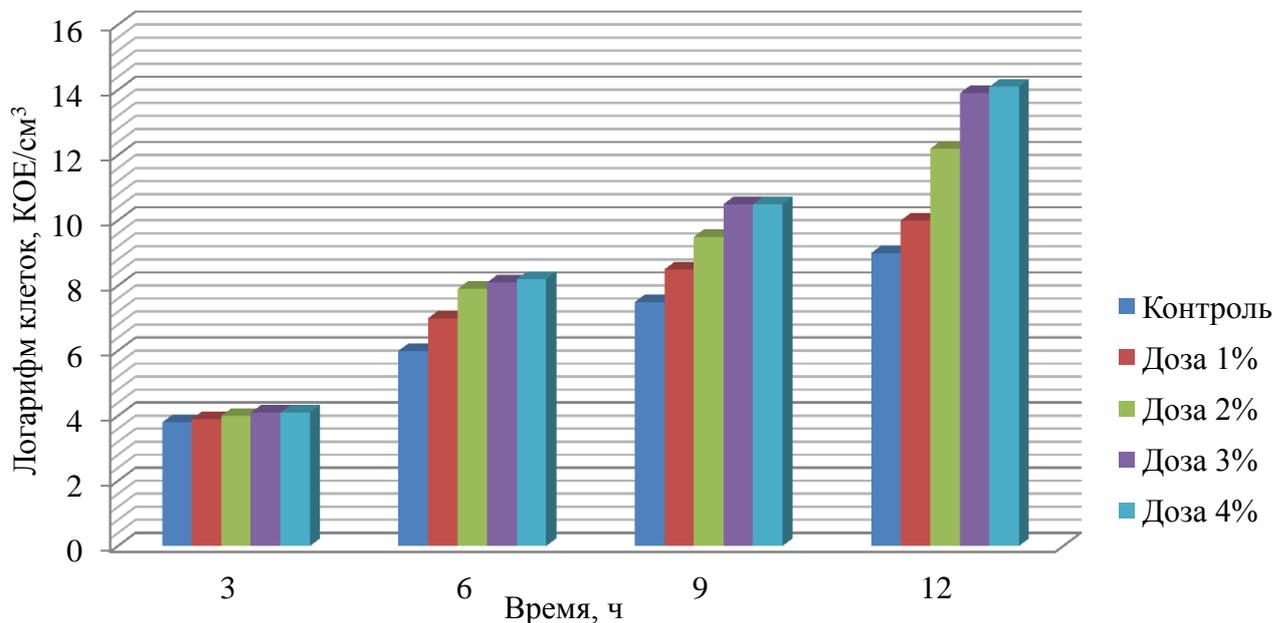


Рисунок 11 - Динамика роста микроорганизмов при внесении различных доз функциональной биодобавки в пивную дробину

Таким образом оптимальная доза внесения закваски в пивную дробину составляет 3 %.

Влияние различных доз внесения закваски пропионовокислых бактерий и азотобактера на кислотообразующую способность при внесении в пивную дробину приведено на рисунке 12.

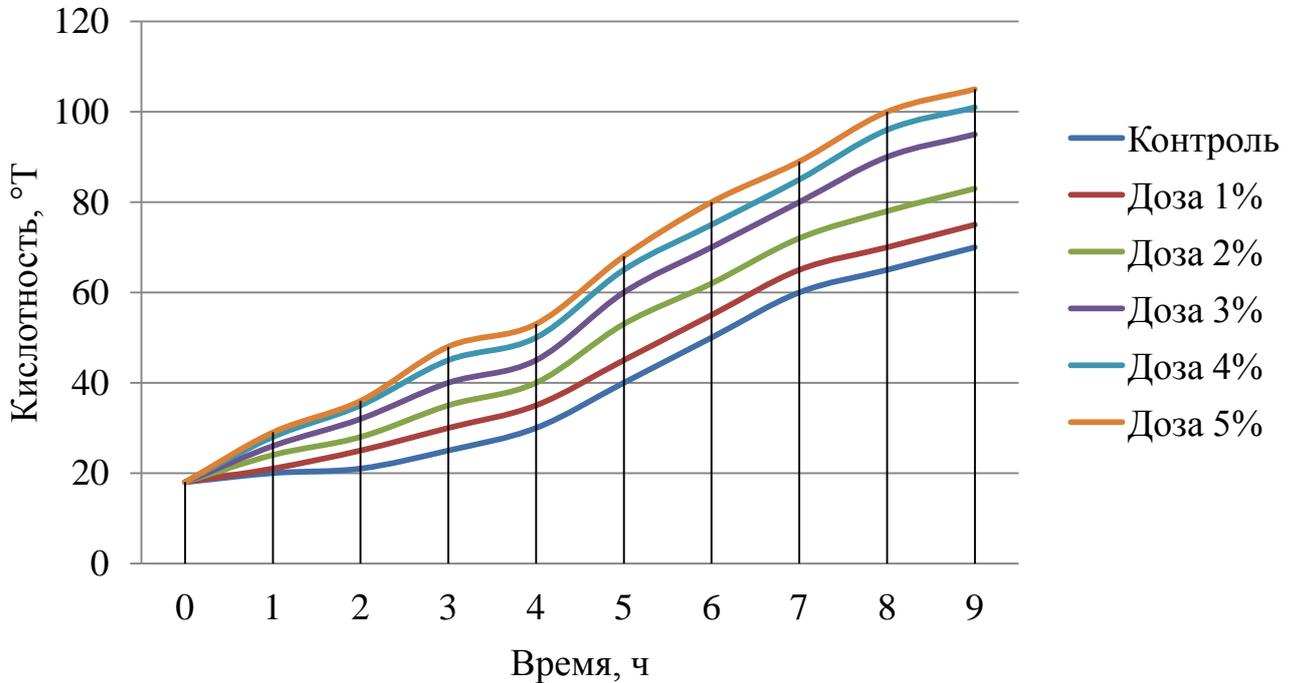


Рисунок 12 – Влияние функциональной биодобавки на кислотообразующую способность при внесении в пивную дробину

Пивная дробина – это продукт, содержащий 80 % воды. Его сушка с целью использования в кормлении сельскохозяйственных животных не является целесообразной как с экономической, так и с экологической точек зрения, поэтому мы предлагаем заменить процесс высушивания на внесение перлита. Также чтобы предотвратить порчу этого ценного кормового сырья мы предлагаем сквашивание разработанной функциональной добавкой. Так как в тёплое время года она портится за несколько дней (рост дрожжей и плесени), свежая пивная дробина должна поставляться минимум один раз в неделю, а лучше – два раза из близлежащего пивного завода, нами была использована дробина с ООО МИП «Экспериментальная биофабрика», не позднее 12 часов с даты выработки.

Результаты ферментации пивной дробины приведены в таблице 17.

Таблица 17 – Варианты ферментации продуктов на основе пивной дробины

Сутки	Показатель	Дробина + пропионово-кислые бактерии	Дробина + азотобактер	Дробина + азотобактер + перлит	Дробина + пропионово-кислые бактерии + перлит	Дробина + азотобактер + пропионовокислые бактерии + перлит
1	pH	6,0	5,9	6,1	5,8	5,4
	КСС	7,0	8,5	12,0	8,8	9,0
	ТК	3,5	2,3	3,0	2,5	2,6
2	pH	5,5	5,7	5,8	5,4	4,9
	КСС	7,5	9,0	12	8,5	8,5
	ТК	4,0	2,5	3,4	2,8	3,5
3	pH	5,1	5,5	5,5	5,0	4,6
	КСС	8,5	10,5	10,0	8,3	8,0
	ТК	5,5	2,9	3,9	3,2	4,5
4	pH	4,6	5,4	4,9	4,8	4,2
	КСС	9,0	12,0	11,0	8,0	7,6
	ТК	7,0	4,0	5,0	4,9	5,0
5	pH	4,5	5,2	4,8	4,4	4,0
	КСС	8,5	14,0	10,0	7,4	7,2
	ТК	8,0	5,0	5,5	5,7	6,0
6	pH	4,4	4,9	4,7	4,0	3,8
	КСС	8,3	13,0	9,5	6,9	6,7
	ТК	8,5	5,2	5,8	6,4	6,5
7	pH	4,3	4,7	4,6	3,7	3,5
	КСС	8,0	11,0	9,0	6,4	6,1
	ТК	9,0	5,6	6,1	6,9	6,8

Соотношение перлита к пивной дробине было взято 1:1 по объему или 4:1 по массе для достижения оптимального результата. Готового препарата вводили 3 % к основному корму.

Анализ способностей пивной дробины к удержанию титра бактериальной биодобавки азотобактера и пропионовокислых бактерии при условии разных температур и пропорций, через 7 суток представлен в таблице 18.

Таблица 18 – Анализ способностей пивной дробины к удержанию титра биодобавки

Соотношение смеси:	Титр	Примечание
Температура +23 °С		
Пивная дробина 1 кг + биодобавка 1 %	$2,5 \times 10^5$	Клетки азотобактера, пропионовокислых бактерий среднего размера, много посторонней микрофлоры
Пивная дробина 1 кг + биодобавка 2 %	$9,6 \times 10^5$	Клетки азотобактера, пропионовокислых бактерий большего размера, много посторонней микрофлоры
Пивная дробина 1 кг + биодобавка 3%	$7,2 \times 10^6$	Клетки азотобактера и пропионовокислых бактерий крупные, посторонняя микрофлора и хлопья органического происхождения
Температура +16 °С		
Пивная дробина 1 кг + биодобавка 1 %	$2,1 \times 10^6$	Клетки азотобактера, пропионовокислых бактерий среднего размера, имеются следы посторонней микрофлоры
Пивная дробина 1 кг + биодобавка 2 %	$6,8 \times 10^6$	Клетки азотобактера пропионовокислых бактерий среднего размера, имеются следы посторонней микрофлоры
Пивная дробина 1 кг + биодобавка 3%	$4,2 \times 10^7$	Клетки азотобактера и пропионовокислых бактерий крупные, имеются следы посторонней микрофлоры
Температура +4 °С		
Пивная дробина 1 кг + биодобавка 1 %	$1,6 \times 10^8$	Мелкая культура азотобактера, колонии пропионовокислых бактерий среднего размера, нет посторонней микрофлоры
Пивная дробина 1 кг + биодобавка 2 %	$4,9 \times 10^8$	Средние клетки культуры азотобактера, пропионовокислых бактерий, нет посторонней микрофлоры
Пивная дробина 1 кг + биодобавка 3 %	$8,3 \times 10^9$	Крупные (40 %) и средние (60 %) клетки азотобактера, крупные колонии пропионовокислых бактерий, нет посторонней микрофлоры

Таким образом, рекомендуется вносить в пивную дробину 3 % функциональной биодобавки и хранить при температуре $+4 \pm 2$ °С.

Результаты проведенных анализов на бактерии группы кишечной палочки, дрожжевые и плесневые клетки представлены на рисунке 13.

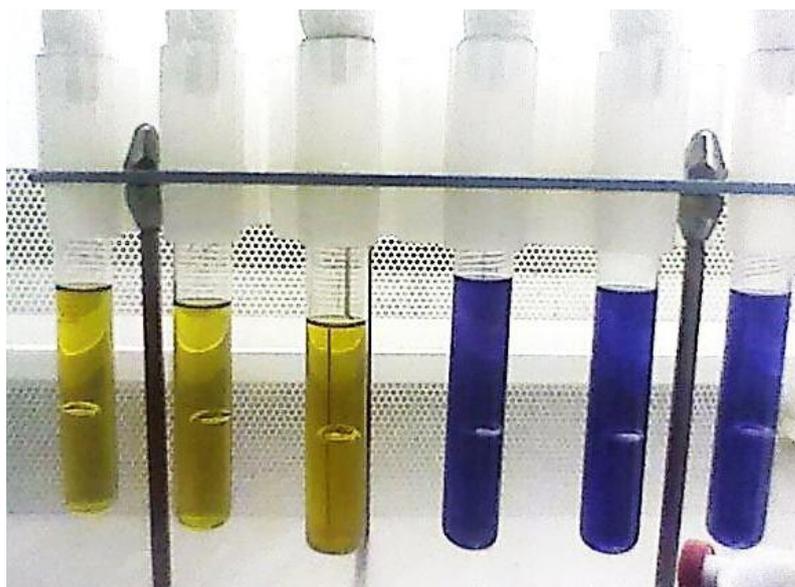


Рисунок 13 – Анализ на БГКП, дрожжевые и плесневые клетки

Результаты микроморфологического контроля чистоты биодобавки, представлены на рисунке 14.

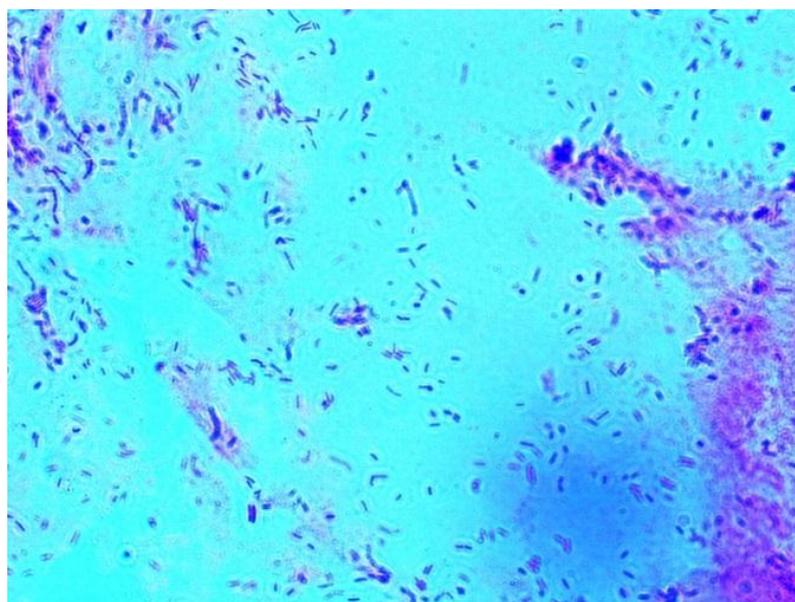


Рисунок 14 – Микроскопическая картина штаммов в биодобавке

Микроморфологический контроль чистоты закваски также показал отсутствие БГКП, дрожжевых и плесневых клеток в 1 г готовой закваски. Закваска полностью соответствует нормам.

Также выяснено, что добавление функциональной биодобавки в побочные продукты переработки в кормлении сельскохозяйственных животных и птиц дополнительно обогащает витамином В₁₂, повышает питательность и усвоение

кормов, что способствует значительному увеличению продуктивности. К тому же, пропионовые бактерии снижают избыточную кислотность вторичных продуктов переработки, а образующиеся при брожении пропионовая и уксусная кислоты хорошо утилизируются животными. При этом бактерии в больших количествах вырабатывают витамины В₂ и В₁₂ (в растениях В₁₂ отсутствует).

В таблице 19 представлен окончательный состав функциональной биодобавки на пивной дробине и его основные показатели.

Таблица 19 – Характеристика разработанной функциональной биодобавки

Показатель	Значение
Дробина пивная, гр	800
Перлит, гр	200
Закваска азотобактера и пропионовокислых микроорганизмов, мл	3
<i>Propionibacterium shermanii</i> , КОЕ	10 ⁹
<i>Azotobacter vinelandii</i> , КОЕ	10 ⁷
Обменная энергия, кДж	5557,6
Обменная энергия, ккал	1327,4
Влага, %	13,6
Сухое вещество, %	88,4
Зола, %	3,9
Сырая клетчатка, ПВ в 1 кг, г	119
Сырой протеин, ПВ в 1 кг, г	264
Сырой жир, ПВ в 1 кг, г	77
БЭВ, ПВ в 1 кг, г	284
Сырая клетчатка, пПВ в 1 кг, г	70,2*
Сырой протеин, пПВ в 1 кг, г	63,4*
Сырой жир, пПВ в 1 кг, г	43,1*
БЭВ, пПВ в 1 кг, г	85,2*
Витамин Е, мг/100 г	21,3
Витамин В ₁₂ , мкг/100 г	43,2

Примечание: * коэффициенты переваримости составили: для клетчатки 41 %, для протеина 76 %, для жира 44 %, для БЭВ 70 %.

Использование пропионовокислых бактерий и азотобактера в составе закваски позволяет получить высококачественный диетический корм для птицы.

3.1.3 Оценка экономической эффективности разработанной функциональной биодобавки

Чтобы определить себестоимость, подсчитывают все расходы на единицу продукции. Снижение себестоимости биодобавки достигается за счет введения

вторичного сырья. Произведен расчет экономической эффективности питательных сред. За стандартные среды для сравнения были выбраны обезжиренное молоко, среды Trypticase Yeast Extract Glucose Medium и ATCC Medium 33, а также Эшби. Стоимости питательных сред представлены на рисунке 15.

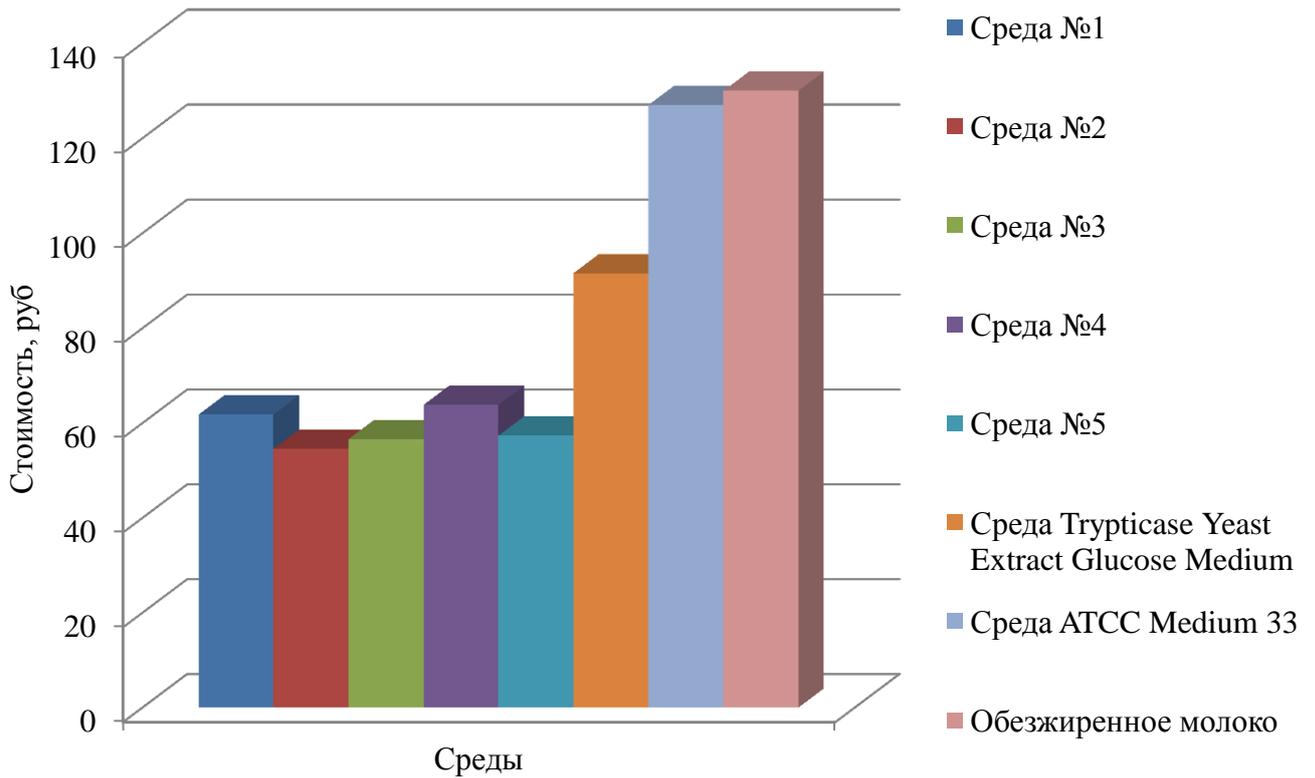


Рисунок 15 – Сравнительная стоимость сред за 1 л

Разработанные нами среды дешевле, чем стандартные среды для выращивания, производство биопродукта выгодно, так как наряду с более низкой себестоимостью при применении разработанной технологии повышается эффективность культивирования.

Произведена оценка стоимости вторичных продуктов переработки, используемых в качестве субстрата, результаты приведены в таблице 20.

Таблица 20 – Стоимость вторичных продуктов переработки и готовой кормовой биодобавки

Сырье	Цена, руб/кг	Цена готовой биодобавки №1, руб/кг	Цена готовой биодобавки №2, руб/кг
Ботва зеленого горошка (Бондюэль)	9,0	16,6	15,8
Виноградные выжимки	5,0	12,6	11,8
Дробина пивная	4,0	11,6	10,8
Жмых подсолнечный	12,0	19,6	18,8
Зеленый корм (гидропонная зелень)	10,0	17,6	16,8
Зерновые отходы	5,5	13,1	12,3
Кукурузная мезга	6,0	13,6	12,8
Лузга подсолнечная	2,0	9,6	8,8
Соевая окара	9,0	16,6	15,8
Свекловичный жом	8,0	15,6	14,8
Томатные выжимки	4,7	12,3	11,5
Тыквенные выжимки	9,5	17,1	16,3
Фуз подсолнечный	16,0	23,6	22,8
Яблочные выжимки	19,0	26,6	25,8

Цена готового продукта высчитывалась исходя из оптимальной дозы внесения заквасок в субстраты 3 %, и перлита 40 р/кг, согласно результатам опытов, в каждый субстрат.

3.2 Оценка биобезопасности и токсичности полученной биодобавки

Микробные контаминанты в кормах и кормовых добавках, такие как *Escherichia coli*, *Clostridium*, *Salmonella*, *Streptococcus* и *Staphylococcus*, а также плесневые и дрожжевые грибы могут переноситься из животного корма в организм животных и пищу людей, представляя угрозу здоровью, поэтому они должны отсутствовать в кормах. При их присутствии корм несет угрозу здоровью, а так же продуктивности животных и птицы, и в дальнейшем человека. Основное решение данной проблемы – использование кормовых биодобавок, сокращающих микробную контаминацию в кормах и улучшает здоровье и продуктивность птицы, позволяя кормовой промышленности обеспечить экономически эффективные и безопасные кормовые биодобавки. Поэтому необходимо детально изучить кормовой биопродукт перед внедрением его в производство.

Биотестирование функциональной биодобавки на токсичность было проведено на стилонихиях в соответствии с ГОСТ Р 52337-2005. Для опыта использовали суточную культуру, проводили тестирование в отдельно отведенном для этого помещении, в пяти повторностях каждой пробы. В контрольную группу 1 и опытную 1 вводили минеральный раствор Лозина-Лозинского, в контрольную группу 2 и опытную 2 вводили раствор ацетона 1 %, выполняли микроскопирование для пересадки и подсчета. Данные опыта отражены в таблице 21.

Таблица 21 - Общая токсичность биодобавки

Группа		Контрольная 1		Контрольная 2		Опытная 1		Опытная 2	
Повторности	1	19	20	18	18	18	18	18	19
	2	19	18	20	19	17	18	18	17
	3	17	18	18	19	18	19	19	18
	4	18	18	17	18	18	17	18	18
	5	19	18	20	19	19	18	18	19
N, %		100		100		97,83		97,85	

По результатам проведенного опыта токсичность в опытных группах составила 97,83 % и 97,85 %, что характеризует биодобавку как нетоксичную.

Далее биобезопасность взятой за основу работы биодобавки, состоящей из консорциума пропионовокислых микроорганизмов и азотобактера изучалась при пероральном введении мышам и изучении гемолитической активности, проявляемой ими на кровяном агаре. При этом патогенной считается выработка гемолизина, так как продукция гемолизина – распространенный маркер вирулентности. Так, в проведенном нами эксперименте, при выращивании биодобавки на 5 %-м кровяном агаре – результат гемолиза был отрицателен, так как зоны лизиса вокруг них не было выявлено. Изучаемый консорциум пропионовокислых микроорганизмов и азотобактера гемолитической активности не проявляет.

Результаты исследований по безопасности полученной биодобавки на мышах представлены в таблице 22.

Таблица 22 – Безопасность полученной биодобавки на мышах ($n = 5$)

Группа	Вид животного	Объем вводимой жидкости, способ введения	Результат испытаний, гол.		
			заболело	пало	выжило
Интактная	Мышь	–	0	0	5
Контрольная		0,5 мл, перорально (физ.раствор)	0	0	5
1-я опытная		0,5 мл, перорально (биодобавка 1)	0	0	5
2-я опытная		0,5 мл, перорально (биодобавка 2)	0	0	5

Эксперимент проводили в течении 5 дней, в результате чего не было зафиксировано гибели мышей, а также заболевших животных, во всех четырех группах исследуемых животных. При ежедневном осмотре было установлено, что мыши оставались активными, подвижными, а также сохранялись все жизненные рефлексы и регистрировалась удовлетворительная поедаемость корма. Таким образом установлено, что используемый консорциум пропионовокислых микроорганизмов и азотобактера, безопасен для применения.

3.3 Влияние синбиотической биодобавки на зоотехнические показатели при кормлении перепелов

3.3.1 Подбор дозировок внесения. Изменение живой массы, сохранность перепелов, конверсия корма и затраты питательных веществ у птиц

Первое исследование. Работу проводили на перепелах мясного направления породы Фараон (объект исследования) при Кубанском аграрном университете в период с 2017 по 2018 гг. Задача исследования – изучение роста и развития, при введении в рацион исследуемой биодобавки пропионовокислых микроорганизмов и азотобактера, нанесенной на отход переработки – пивную дробину, смешанную с перлитом, с различными процентами внесения к рациону.

В первую неделю прироста по опытным группам различались с контролем на 1,1 %, 1,5 %, 2,1 %, 2,1 %, 2,2 %, 2,2 %, 2,3 %. Лучшей по рентабельности была группа, в которой препарат применялся в дозировке 2,0 %.

Во вторую неделю тенденции увеличения массы тела также прослеживались с лучшими результатами в группе с дозировками 2 % – живая масса перепелов в этой группе увеличилась на 2,1 % в сравнении с контролем.

В третью неделю исследования наибольшие различия отмечались в группе с применением 2,0–2,5 %, живая масса перепелов по группам увеличилась в сравнении с контролем на 1,3 %, 1,9 %, 2,6 %, 2,8 %, 2,9 %, 2,9 %, 3,0 % соответственно.

На 4-й неделе введения в рационы биодобавки лучшие результаты показало внесение 2,5 % биодобавки, различия же по массе в группах за неделю были 1,5 %, 2,0 %, 2,6 %, 3,1 %, 3,4%, 3,5 %, 3,6 % соответственно.

На 5-й неделе исследования лучшие результаты также были у группы с добавлением 2,5 % биодобавки. Различия по массе составили от 1,4 до 3,9 %.

На 6-й неделе прироста по опытным группам различались с контролем на 1,7 %, 2,3 %, 2,7 %, 2,9 %, 3,2 %, 3,3 %, 3,4 %.

На 7-й неделе живая масса перепелов по группам увеличилась в сравнении с контролем на 1,8 %, 2,3 %, 2,7 %, 3,0 %, 3,4 %, 3,4 %, 3,5 % таким образом, лучшей по рентабельности была группа, в которой препарат применялся в дозировке 3,0 %.

Применение функциональной биодобавки улучшило показатели сохранности птицы. В опытных группах она была выше на 2,6–3,9 % относительно контрольной группы птиц.

Таким образом, оценивая влияние биодобавки на сохранность и живую массу перепелов, можно отметить, что оптимальная доза внесения в рацион перепелов составила 2,0, 2,5 и 3,0 % при выращивании перепелов в клеточных условиях в течение 49 суток, так как наибольший эффект проявлялся при использовании доз функциональной биодобавки в диапазоне 2,0 % в период 1–21 сутки, 2,5 % с 21 по 42 сутки и 3,0 % после 42 суток, что было использовано как основа для дальнейших опытов.

Второе исследование. Задачей второго исследования являлось установить влияние двух кормовых биодобавок: пропионовокислых микроорганизмов и

синбиотическую биодобавку азотобактера с пропионовокислыми микроорганизмами в соответствии с лучшими показателями процентного введения установленными в первом опыте. Продолжительность второго опыта составила 56 суток. Двум группам перепелов в составе основного рациона вводили биодобавки и прослеживали динамику роста и развития перепелов породы Техасская белая при аналогичных первому опыту условиях исследования. Дозировки внесения в рацион перепелов составили 2,0 % в период 1–21 сутки, 2,5 % с 21 по 42 сутки и 3,0 % после 42 суток.

Дополнительно были учтены затраты корма на 1 кг прироста живой массы путем взвешивания заданного корма и его остатков по группе птицы, конверсия и переваримость питательных веществ. Контрольный убой с полной анатомической разделкой тушек проводили в 7-ми недельном возрасте, путем отбора 3 самцов и 3 самок в каждой группе. Его целью было изучения мясных качеств перепелов.

Взвешивание проводили индивидуально, группы формировали исходя из веса птицы. В среднем вес птицы составил 9,8 грамм. Динамика массы перепелов приведена в таблице 23.

Таблица 23 – Динамика живой массы перепелов, n = 50

Показатель	1 группа	2 группа	3 группа
1-е сутки	9,72±0,10	9,78±0,11	9,76±0,10
7-е сутки	40,50±0,32	41,75±0,33	42,25±0,35
14-е сутки	92,50±2,15	108,90±2,46	108,65±2,47
21-е сутки	156,60±3,26	180,90±3,50	179,80±3,49
28-е сутки	213,70±5,32	246,20±5,49	244,70±5,46
35-е сутки	253,68±5,58	288,20±5,69	285,74±5,65
42-е сутки	293,59±5,72	326,78±5,96	321,64±5,93
49-е сутки	314,87±6,24	349,40±6,86	344,56±6,82
56-е сутки	335,14±7,06	368,45±7,36	363,52±7,31

На 7-е сутки опыта по живой массе опытные группы превосходили контрольную. Показатели составили 41,75 г в 1-й и 42,25 г во 2-й, в контрольной группе 40,50 г. На 14-е сутки динамика живой массы в 1-й опытной группе выше

контрольной на 16,40 г во 2-й опытной группе на 16,15 г. На 21-е сутки показатели возросли на 24,30 г и 23,20 г по сравнению с контролем. На 28-е сутки в опытных группах были выше контрольной на 32,50 г и 31,00 г. На 35-е сутки проведения опыта разница живой массы составила 34,52 г и 32,06 г в 1-й и 2-й группе в сравнении с контролем. На 42-е сутки наблюдения абсолютная масса опытных групп превосходила контрольную на 33,19 г и 28,05 г соответственно. На 49-е сутки расхождения в показателях составили 34,53 г и 29,69 г. На 56-е сутки подводили итоги научно-хозяйственного опыта, различия по живой массе составили 33,31 г и 28,38 г соответственно.

Сохранность и приросты живой массы перепелов приведены в таблице 24.

Таблица 24 – Сохранность и приросты живой массы перепелов, n = 50

Показатель	Вес	1 группа	2 группа	3 группа
Прирост живой массы 1-56 сут	Одной головы в среднем, г	305,15	339,56	334,64
	Среднесуточный, г	6,22	6,93	6,83
Расход комбикорма 1-56 сут	На 1 голову, г	893,36	871,28	875,64
	На 1 кг прироста, г	2,93	2,56	2,62
Сохранность, %		94	98	98

Во 2-й группе получавшей функциональную биодобавку пропионовокислых микроорганизмов приросты массы были на 11,3 % больше контрольной группы, в 3-й группе, получавшей функциональную биодобавку пропионовокислых микроорганизмов с азотобактера на 9,7 % больше контрольной группы при сохранности птицы 98 % в обеих группах. При затратах корма меньше на 12,6 и 10,6 % соответственно.

Конверсия во все дни была выше опытных функциональных биодобавок в среднем на 17,8 % при применении функциональной биодобавки 1, и 18,3 % при применении функциональной биодобавки 2. В 1–7 сутки на 3,5 и 3,0 % соответственно, 8–14 сутки на 28,9 и 27,8 %, 15–21 сутки на 24,9 и 19,6 %, 22–28 сутки на 10,2 и 9,7 %, 29–35 сутки на 24,0 и 21,0 %, 36–42 сутки на 49,3 и 41,4 %, 43–49 сутки на 3,6 и 2,7 %, 50–56 сутки на 1,1 и 7,3 %. Усредненные

данные по конверсии питательных веществ и энергии для опытных и контрольной групп по общим показателям качества приведены в таблице 25.

Таблица 25 – Конверсия питательных веществ корма и энергии

Группа	Показатель, на 1 кг прироста			
	Сырой протеин, г	Сырая клетчатка, г	Лизин, г	Обменная энергия птицы, ккал
Контрольная	986,6	219,8	59,5	12140,7
1-я опытная	893,9	190,2	52,6	10692,3
2-я опытная	868,5	193,6	54,1	10865,4

Опытные показатели для расчета переваримости кормов представлены в таблице 26.

Таблица 26 – Опытные показатели для расчета переваримости кормов

Показатель, %	Группа				
	Контрольная	Опытная 1		Опытная 2	
	% в образце	% в образце	% к контролю	% в образце	% к контролю
Корм					
Влага	9,1±1,33	9,3±1,48	-	9,4±1,37	-
Сухое вещество	90,9±3,42	90,7±3,25	-	90,6±3,21	-
Сырая зола	1,7±0,39	1,9±0,45	11,7	1,9±0,51	11,7
Сырой протеин	20,8±2,62	21,2±2,54	1,9	21,3±2,43	2,4
Сырой жир	3,8±1,35	4,0±1,57	5,3	4,0±1,52	5,3
Сырая клетчатка	5,3±1,12	5,5±1,10	3,8	5,4±1,11	1,9
БЭВ	10,8±1,31	11,4±1,29	5,6	11,3±1,36	4,6
Помет					
Влага	46,4±3,82	57,3±3,38	-	55,6±3,46	-
Сухие вещества	53,6±3,89	42,7±3,96	-	44,4±3,81	-
Сырая зола	8,2±1,50	9,0±1,49	9,7	9,1±1,59	10,9
Сырой протеин	11,9±1,62	11,6±1,41	- 2,5	11,5±1,56	- 3,4
Сырой жир	8,9±1,36	9,1±1,75	2,2	9,0±1,41	1,1
Сырая клетчатка	11,3±1,12	11,6±1,18	2,6	11,5±1,23	1,7
БЭВ	28,4±1,67	29,7±1,54	4,6	29,6±1,58	4,2

Перевариваемость органического вещества рациона у высокопродуктивных птиц должна быть выше. Непереварившиеся вещества корма выделяются из организма, поскольку потребность птицы в питательных веществах увеличивается вместе с растущей продуктивностью, а ёмкость пищеварительного тракта является ограниченной, необходимо увеличивать концентрацию питательных веществ в рационе с увеличивающейся продуктивностью животного. То есть в одинаковом объёме корма должно содержаться больше питательных веществ.

В результате опыта выяснено, что при введении в рацион биодобавок перевариваемость питательных веществ улучшается. Переваримость протеина в сравнении с контрольной группой повысилась на 4,4 % в 1-й опытной группе и на 5,8 % во 2-й, клетчатки на 1,1 % в 1-й группе и на 0,1 % во 2-й. Переваримость органических веществ составила 2,0 и 0,8 %. Процент переваримости жира повысился на 3,0 и 4,1 % соответственно.

Изучение яйценоскости не стояло в основных задачах, однако выяснено, что средняя масса яиц в контрольной группе составила 10,51 г, в опытных – 11,41 и 11,34 г. Индекс формы яиц контрольной группы – 76,72 %, против 82,06 % в 1-й опытной группе, и 81,93 % во 2-й. Толщина скорлупы в 1-й опытной группе выше, чем в контрольной, на 6,01 %, во 2-й – на 5,94 %. Поворачивание и просвечивание яиц на овоскопе показало, неподвижную воздушную камеру во всех группах. Желток прочный, видимый во всех группах, у опытных групп он больше по массе на 1,09 и 0,98 %. Белок светлый, прозрачный в яйцах всех групп, однако в контрольной группе он недостаточно плотный и слегка растекается при выливании, а у яиц 1-й и 2-й опытных групп белок не терял формы. Масса белка яиц опытных групп была выше контрольной на 1,13 и 1,02 %.

3.3.2 Гематологические и биохимические показатели крови перепелов, морфофизиологические параметры развития внутренних органов птицы

Работу проводили на перепелах породы Фараон в условиях лаборатории на факультете ветеринарной медицины КубГАУ. Использовали сыворотку крови перепелов. Результаты общего анализа крови отражены в таблице 27.

Таблица 27 – Результаты общего анализа крови птицы, n=10

Показатель	Нормы (Насонов И. В., 2014)	Группа		
		1	2	3
Гемоглобин (Hb), г/л	102–151	130,13±1,20	131,01±1,88	132,32±1,33
Эритроциты (RBC), 10 ¹² /л	2,5–3,9	3,33±0,18	3,32±0,16	3,31±0,14
Лейкоциты (WBC), 10 ⁹ /л	13,0–26,9	24,25±1,15	23,04±0,67*	23,12±0,25*
Тромбоциты, 10 ⁹ /л	3–33	13,18±0,51	18,20±0,64*	17,34±0,01*
Фибриноген, г/л	1,3–4,1	3,18±0,21	2,94±0,18*	3,06±0,23
Лимфоциты, 10 ⁹ /л	1,2–4,2	2,79±0,13	2,39±0,11	2,58±0,12
Эозинофилы, 10 ⁹ /л	0,0–1,8	0,42±0,06	0,45±0,07	0,46±0,06

Примечание: * – разница с контролем достоверна, P < 0,05

Исследования биохимии сыворотки крови проводились согласно нормам клинической лабораторной диагностики в ветеринарии, по методическим указаниям по применению унифицированных методов исследований крови в ветеринарных лабораториях [82].

По результатам гематологического исследования крови перепелов можно сделать вывод, что содержание гемоглобина в крови перепелов 1-й опытной группы увеличилось на 0,7 %, а 2-й опытной группы увеличилось – на 1,7 % в сравнении с контрольной группой. Количество эритроцитов уменьшилось на 0,3 % и на 0,6 % соответственно. Содержание лейкоцитов уменьшилось в 1-й опытной группе на 8,5 %, во 2-й опытной группе на 7,9 %. Тромбоциты уменьшились на 38,1 % и 31,6 % соответственно, фибриноген снизился на 7,5 и 3,8 %, лимфоциты упали на 14,3 и 7,5 % а эозинофилы повысились на 7,1 и 9,8 %. При этом все исследуемые показатели крови у перепелов находились в границах физиологической нормы.

Результаты исследований биохимии сыворотки крови перепелов отражены в таблице 28.

Таблица 28 – Результаты исследований биохимии сыворотки крови птицы, n=10

Биохимический показатель	Нормы	Группа		
		1	2	3
АЛТ (Аланинаминотрансфераза), Ед/л	4–20	7,20±1,13	7,80±1,18	7,40±1,03
АСТ (Аспаргатаминотрансфераза), Ед/л	228–336	288,70±8,93	291,00±9,97*	257,70±8,58*
Глюкоза, ммоль/л	7,0–15,8	12,14±0,33	11,39±0,42	12,62±0,29
Креатинин, мкмоль/л	19–27	24,57±0,89	25,35±0,83	23,02±0,79
Мочевая кислота, ммоль/л	300–700	321,57±9,03	385,55±9,93	375,53±9,81
Мочевина, ммоль/л	1,1–5,9	1,68±0,04	1,56±0,03	1,57±0,03
Щелочная фосфатаза, Ед/л	490–950	778,90±18,95	829,20±19,93*	753,10±18,29*
Холестерин, ммоль/л	1,9–4,7	4,21±0,13	4,03±0,11	4,09±0,10
Фосфор, ммоль/л	1,1–2,3	2,12±0,09	1,99±0,07*	2,05±0,08*
Кальций, ммоль/л	2,0–2,7	2,63±0,13	2,44±0,11*	2,50±0,09*
Общий белок, г/л	25–40	29,18±0,82	31,40±0,96	30,25±0,85
Белковые фракции				
Альбумины, г/л	10–18	14,90±0,40	14,86±0,38	15,02±0,49
Глобулины, г/л	16,3–18,5	17,42±0,48	17,03±0,41	16,96±0,52

Примечание: * – разница с контролем достоверна, P < 0,05

Синбиотическая биодобавка положительно повлияла на биохимические показатели перепелов. Уровень холестерина в 1-ой опытной группе ниже контрольной на 4,07 %, во 2-ой опытной группе на 2,87 %. Содержание фосфора в крови 1-й и 2-й опытных групп по сравнению с контролем, снизилось на 6,13 и 3,3 %, кальция на 7,22 и 4,94 % соответственно, глобулинов на 2,24 и 2,64 %. Это указывает на высокий расход резервов электролитов и аминокислот сыворотки крови, идущих на построение структур яйца перепелок-несушек в период яйцекладки. Уровень фермента АСТ в 1-й опытной группе выше контрольной на 4,26 %, во 2-й опытной – ниже на 10,74 %. Достоверной разницы в показателях аланинаминотрансферазы, мочевины, альбуминов и общего белка в группах не наблюдалось. Уровень общего белка в 1-й и 2-й опытных группах был ниже, чем в

контрольной на 7,61 и 3,67 %. При этом все биохимические показатели крови исследуемых групп находились в пределах физиологических норм. Данные результаты показывают эффективность использования данной функциональной биодобавки в птицеводстве. Показатели мочевины, АСТ во всех группах находились в пределах нормы, что показывает отсутствие глубоких патологий печени птицы во всех группах.

Мясные качества перепелов оценивали по объему съедобных частей тушки. Данные мясной продуктивности перепелов представлены в таблице 29.

Таблица 29 – Мясные качества перепелов на 49-е сутки (n = 6)

Показатель	Группа		
	Контрольная	Опытная 1	Опытная 2
Живая масса перед убоем, г	298,7±4,41	333,5±5,22*	315,4±5,04*
Масса тушки птицы после обескровливания, г	280,2±4,19	324,9±4,17*	302,1±4,29*
К живой массе, %	93,8	97,4	95,8
Масса непотрошенной тушки, г	260,3±4,09	305,5±4,02*	281,4±3,97*
К живой массе, %	87,1	91,6	89,2
Масса потрошенной тушки, г	209,1±3,56	256,4±3,72*	231,8±3,84*
Убойный выход, %	70,0	76,9	73,5
Масса бедренных мышц, г	25,2±0,93	29,0±0,94*	28,0±0,87
К живой массе, %	8,4	8,6	8,8
Мышцы голени, г	13,3±0,35	14,8±0,35*	14,0±0,33*
К живой массе, %	4,4	4,4	4,4
Грудные мышцы, г	62,9±2,19	74,7±1,95	69,9±1,92*
К живой массе, %	21,0	22,4	22,1
Остальные мышцы, г	7,1±0,36	8,4±0,34	8,5±0,36
К живой массе, %	2,3	2,5	2,6
Всего съедобных мышц, г	108,5±2,59	126,9±2,52*	120,4±2,62*
К живой массе, %	36,3	38,0	38,1

Примечание: * – разница с контролем достоверна, P < 0,05

Перепела с наибольшей массой грудных мышц были в 1-й опытной группе с показателями выше контрольной группы в среднем на 1,4 %. Птица во 2-й опытной группе имела в среднем массу грудных мышц выше контроля на 1,1 %. Масса

бедренных мышц в среднем превышала показатели контрольной группы на 0,2 % в 1-й группе и ниже на 0,4 % во 2-й группе. Масса потрошенных тушек птицы выше контрольной группы в 1-й опытной на 6,9 %, во 2-й опытной – на 3,5 % относительно контроля. Суммарный процент массы съедобных мышц перепелов превышал на 1,7 % в 1-й группе и на 1,8 % во 2-й относительно контрольной.

Дополнительно произведен анализ развития внутренних органов перепелов на 49-е сутки с целью установления полной оценки влияния функциональной биодобавки на мясную продуктивность перепелов, что отображено в таблице 30.

Таблица 30– Развитие внутренних органов перепелов на 49-е сутки, n = 6

Показатель	Группа		
	Контрольная	Опытная 1	Опытная 2
Печень, г	6,11±0,19	5,72±0,21	5,58±0,25
К живой массе, %	2,07	1,81	1,67
Сердце, г	2,02±0,12	2,54±0,13	2,30±0,10
К живой массе, %	0,65	0,80	0,68
Мышечный желудок, г	4,02±0,39	5,00±0,35	4,76±0,38
К живой массе, %	1,30	1,58	1,42
Железистый желудок, г	1,22±0,05	1,02±0,05	1,26±0,05
К живой массе, %	0,40	0,32	0,37
Кишечник, г	12,02±0,30	11,82±0,23	11,08±0,29
К живой массе, %	3,94	3,54	3,62
Длина кишечника, см	85,00±1,31	67,80±1,35	81,00±1,53
Длина слепого отростка, см	9,50±0,23	8,10±0,19	10,80±0,20
Кожа с подкожным жиром, г	10,03±0,31	9,02±0,34	9,21±0,31
К живой массе, %	3,25	2,85	3,16
Абдоминальный жир, г	9,58±0,20	8,46±0,22	9,54±0,21
К живой массе, %	3,10	2,68	2,75

Примечание: * – разница с контролем достоверна, P < 0,05

Все органы находятся в пределах физиологической нормы, существенных различий по массе в опытных группах не выявлено. Так, введение в рацион перепелов 1-й и 2-й функциональных биодобавок снижает количество

абдоминального жира относительно контрольной группы на 11,3 и 8,9 % соответственно, что показывает положительный эффект при применении добавки. Размеры печени меньше контрольной группы в 1-й опытной группе на 11,3 %, во 2-й на 15,6 %. Длина кишечника у птицы 1-й и 2-й опытных групп меньше на 18,5 и 12,1 % относительно контрольной группы. Разница в массе кишечника составила 14,9 и 11,6 % относительно контрольной группы.

Химический состав мяса перепелов приведен в таблице 31.

Таблица 31 – Химический состав мяса перепелов

Группа	Показатель				
	Вода	Сухое вещество	Зола	Белки	Жиры
Контрольная	72,37±4,02	27,63±1,26	0,79±0,02	21,69±1,35	5,02±0,35
1-я опытная	70,54±3,67	29,46±1,65	0,81±0,02	23,98±1,06	4,36±0,24
2-я опытная	70,98±3,56	29,02±1,44	0,82±0,02	23,64±1,12	4,41±0,29

По результатам проведенных исследований можно отметить, что опытные группы имели меньшее количество жира, в 1-й группе на 13,1 %, во 2-й на 12,2 % относительно контрольной. Помимо этого отмечается большее количество белка на 10,6 и 9,0 % соответственно.

Результаты расчета энергетической ценности мяса приведены в таблице 32.

Таблица 32 – Результаты энергетической ценности мяса перепелов

Группа	Энергетическая ценность в 1 кг мышц	
	ккал	кДж
Контрольная	131,94	552,41
1-я опытная	135,16	565,89
2-я опытная	134,25	562,08

Таким образом, энергетическая ценность мяса перепелов во всех группах примерно одинакова, и колеблется в пределах 131–134 ккал или 552–565 кДж, однако в опытных группах она выше в 1-й группе на 2,4 %, во 2-й на 1,8 %.

По результатам проведенных исследований выяснено, что пивная дробина имеет рН 3,5–4,5, при длительном использовании в больших количествах вызывает деминерализацию (особенно страдают Са и Mg) происходит нарушение кальций-фосфорного обмена, возникает дополнительная нагрузка на печень.

Поэтому важно подобрать дозы внесения в малых количествах, однако оказывающих положительный эффект на организм птицы. После кормления нами была взята печень 6-ти птиц каждой группы и отправлена на гистологический анализ.

Гистологические анализы печени проводили в испытательном центре «Краснодарской межобластной ветеринарной лаборатории». Гистопрепарат печени перепелов готовили согласно методическому руководству «Морфологические исследования в ветеринарных лабораториях».

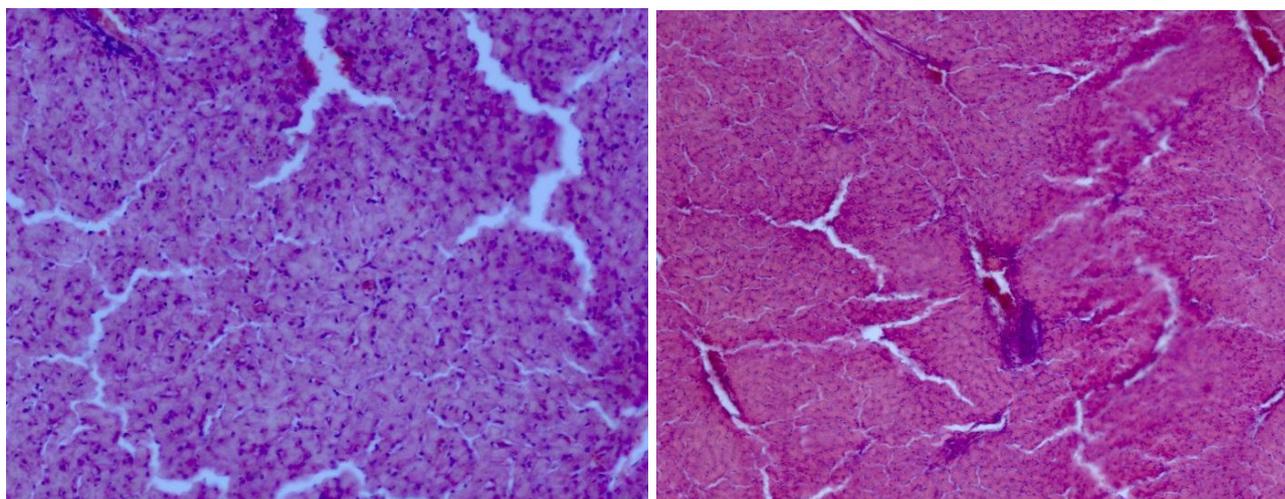


Рисунок 16 – Срез клеток печени контрольной группы

В контрольной группе обнаружена кровенаполненность сосудов, околососудистая пролиферация, лизис клеток, у 2-ух из 6-ти образцов наблюдалась гидропическая дистрофия печени.

В 1-й опытной группе наблюдалась кровенаполненность сосудов, а также небольшая околососудистая пролиферация. Лизиса и дистрофия не обнаружена. Во 2-й опытной группе гистологическая картина показала только лизис клеток.

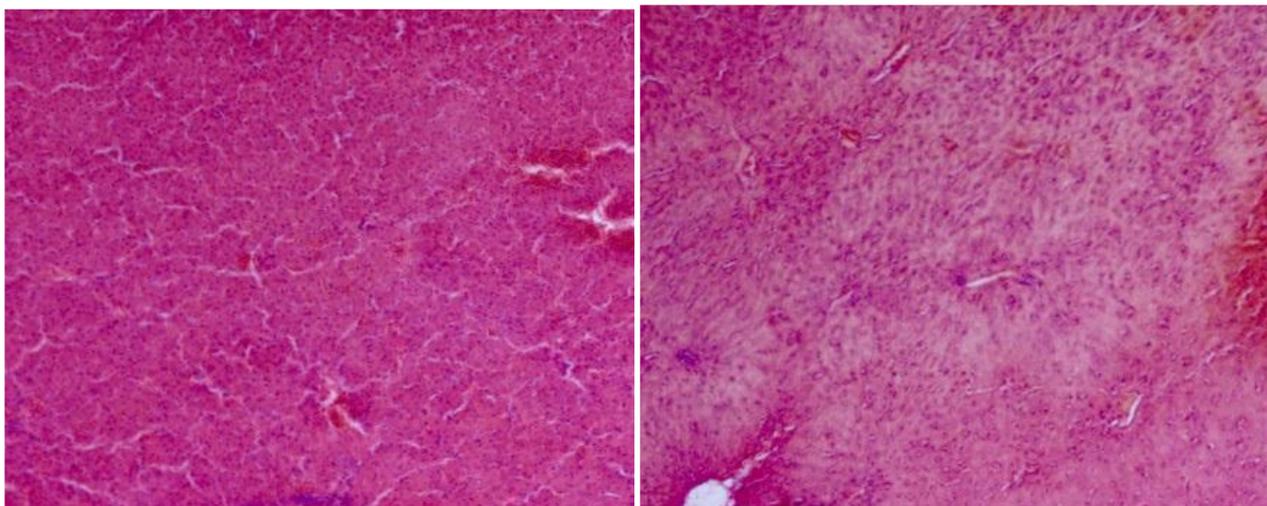


Рисунок 17 – Срез клеток печени 1 и 2 опытных групп

В 1-й и 2-й опытных группах печень имела вишневый оттенок, в то время как в контрольной – сиреневую окраску, что является следствием дистрофии и жировой инфильтрации печени. Это объясняется тем, что витамин В₁₂ в составе биодобавки, в сочетании с фолиевой кислотой и пиридоксином, способствует нормализации обмена метионина и холина, оказывая благоприятное воздействие на печень и препятствуя ее жировому перерождению. В связи с тем, что метионин и холин относятся к липотропным веществам, способствующим нормализации обмена холестерина и липидов в организме, и стимулирующих мобилизацию жира из печени, а также его окисление, что в итоге ведёт к уменьшению степени выраженности жировой инфильтрации печени.

Далее проводилась дегустационная оценка, были отварены грудные и бедренные мышцы, с последующей оценкой по 5-ти бальной шкале. Оцениваемые части: мышцы голени, грудные мышцы и бульон. В дегустации принимало участие 20 человек. Усредненные данные представлены на рисунках 18–20.

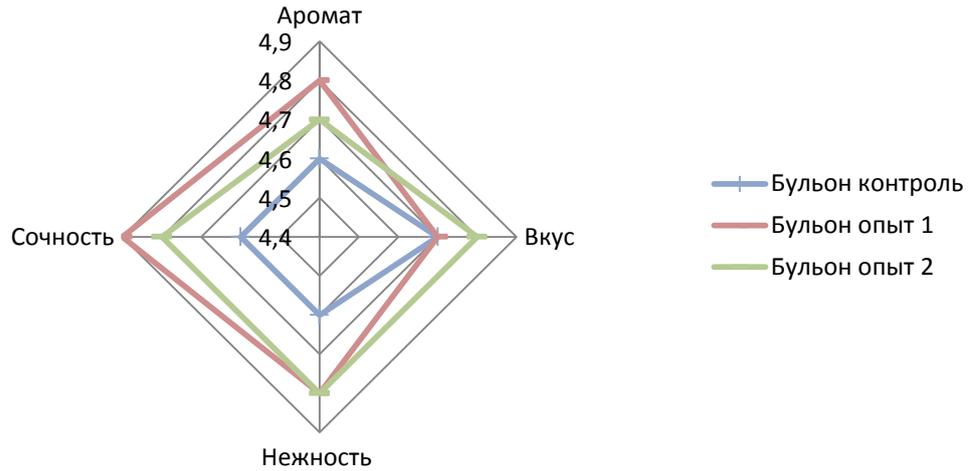


Рисунок 18 – Дегустационная оценка бульона из мяса перепелов

Бульон контрольной группы имел большую жирность, но визуально менее привлекателен из-за хлопьев жира, вкус наваристый. Бульон 1-й опытной группы наиболее прозрачный и привлекательный, очень приятный и сильный аромат, наваристый, 17-ть из 20-ти человек оценили его по максимальному баллу. Также на отлично был оценен и бульон 2-й опытной группы.

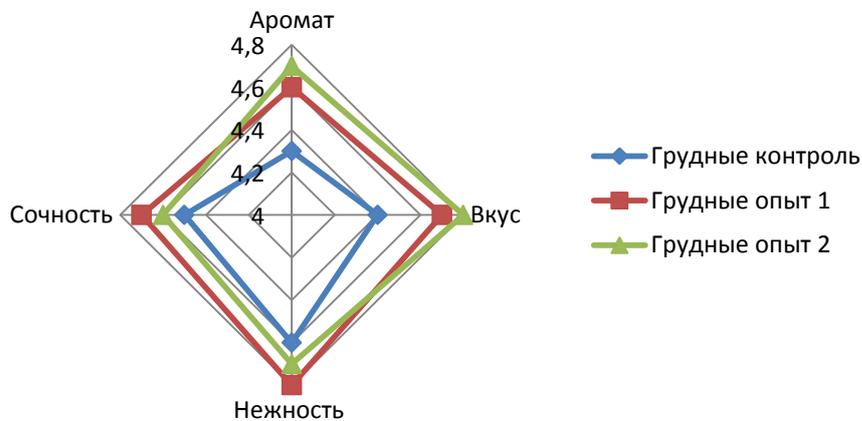


Рисунок 19 – Дегустационная оценка грудных мышц перепелов

Мясо грудных мышц контрольной группы сухое, по результатам дегустационной получило наименьшие баллы. Наиболее высоко оценено мясо грудных мышц 1-й опытной группы, обладавшее нежной консистенцией, сочным, ярко выраженным вкусом и получившее среднюю оценку очень хорошо.

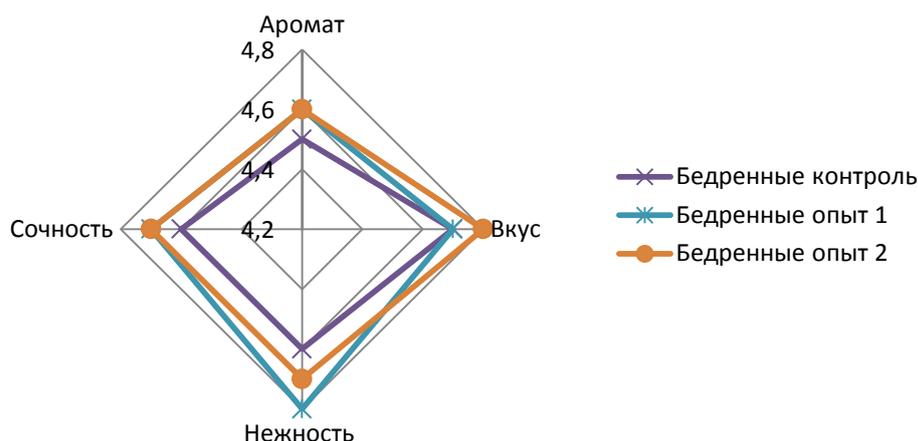


Рисунок 20 – Дегустационная оценка бедренных мышц перепелов

Мясо бедренных мышц больше всего понравилось дегустаторам, оно было ароматным, нежным, сочным, с красивым цветом на разрезе. В опытных группах оно оценено выше, но и в контрольной группе мясо голени нареканий не вызвало.

Далее был проведен анализ микрофлоры желудочно-кишечного тракта перепелов, так как уменьшение количества нормальной микрофлоры способствует нарушению пищеварения, развитию инфекционных болезней, ослаблению иммунитета, возникновению патологий ЖКТ.

Анализ микрофлоры желудочно-кишечного тракта проводился на определение общего микробного числа (ОМЧ), а также колониеобразующих единиц лактобактерий, результаты отражены в таблице 33.

Таблица 33 – Микрофлора желудочно-кишечного тракта птицы

Группа	Общее микробное число (КОЕ)	Количество лактобактерий (КОЕ)
Контроль	$1,3 \times 10^{11}$	$1,0 \times 10^{10}$
	$5,0 \times 10^{11}$	$5,0 \times 10^9$
	$2,3 \times 10^{11}$	$1,0 \times 10^8$
Среднее по группе	$2,8 \times 10^{11}$	$2,3 \times 10^9$
Опытная 1	$1,2 \times 10^{12}$	$1,0 \times 10^6$
	$2,4 \times 10^{12}$	$2,0 \times 10^8$
	$2,4 \times 10^{12}$	$1,0 \times 10^9$
Среднее по группе	$2,0 \times 10^{12}$	$1,3 \times 10^8$
Опытная 2	$2,0 \times 10^{11}$	$4,0 \times 10^{11}$
	$1,5 \times 10^{12}$	$4,0 \times 10^{10}$
	$2,6 \times 10^{12}$	$2,0 \times 10^6$
Среднее по группе	$1,3 \times 10^{12}$	$3,3 \times 10^9$

По результатам высевок можно сделать выводы, что общее микробное число выше во всех опытных группах в сравнении с контролем. Количество лактобактерий при применении функциональной биодобавки, содержащего микроорганизмы рода азотобактер и пропионовокислые микроорганизмы ниже, чем в контрольной группе и группе, получавшей биопрепарат на основе только пропионовокислых микроорганизмов, однако титры находятся в пределах нормы.

Высевы микроорганизмов из помета птицы показали, что после прохождения желудочно-кишечного тракта титры азотобактера сохраняются, что отображено на рисунке 21.

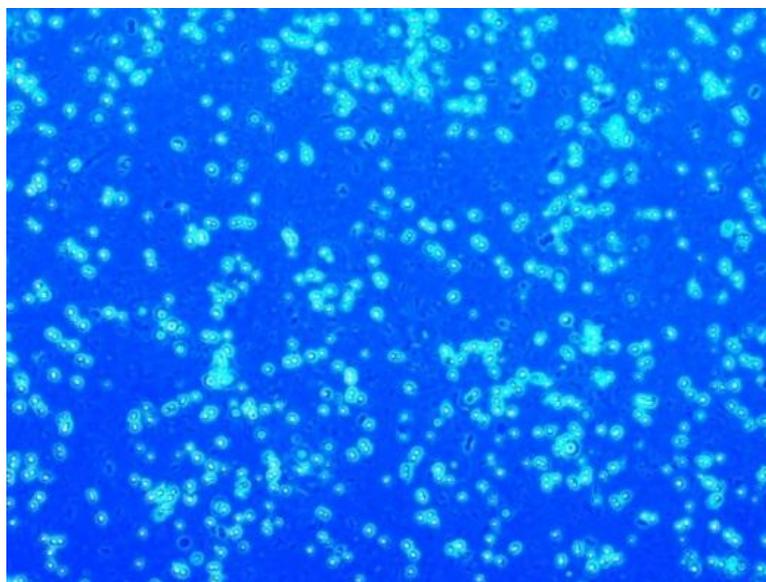


Рисунок 21 – Клетки *Propionibacterium shermanii* и *Azotobacter vinelandii* после прохождения кишечника перепелов

Предположено, что функциональная биодобавка способна оказать зоогигиенический эффект, что было доказано следующим опытом.

В процессе подбора микроорганизмов одним из них нами был выбран азотобактер, который имеет свойство устранения аммиака в помете и придает не только пробиотические, но и дезодорирующие свойства функциональной добавке. Опыт заключался в исследовании помета на содержание внесенной культуры азотобактера и органолептический контроль полученного помета (запах). Отбор проб помета производили на 2-е, 4-е, 6-е сутки. Отобранный помет высевали на среду Эшби для анализа количества выживших клеток азотобактера. Титры

клеток в помете на 2-е сутки составили 10^5 КОЕ/см³, на 4 сутки – 10^4 КОЕ/см³, на 6 сутки – 10^4 КОЕ/см³.

В результате органолептического контроля помета отмечается снижение интенсивности запахов в помещении, а следовательно и аммиачной нагрузки. Основными результатами от применения азотобактера в кормлении перепелов стало уменьшение количества БГКП с 10^3 КОЕ/см³ до 10^2 КОЕ/см³.

Результаты микробиологического контроля показали подавление гнилостной микрофлоры (псевдомонады, клостридии). Следует отметить, что полученный помет соответствует требованиям ГОСТ Р 53765-2009 «Помет птицы». Класс опасности переработанного птичьего помёта снизился с 3-го до 4-го (вещества малоопасные) по результатам биотестирования.

Применение функциональной биодобавки не вызывает ухудшения состояния животных, напротив, положительно влияет на их продуктивность.

3.3.3 Оценка экономической эффективности разработанной функциональной биодобавки при введении в рацион перепелов

Экономическую эффективность оценивали из расчета анализа рентабельности при выращивании перепелов с использованием разработанного биопрепарата для переработки растительных отходов. Так независимо от стоимости комбикорма, цена его с добавлением функциональной биодобавки увеличится, не считая стоимости субстрата, соответственно на: 0,2 р/кг 0–14 дней, 0,25 р/кг с 14 по 21 день, 0,30 р/кг с 21 по 42 день и при необходимости далее.

Экономическая эффективность при скармливании функциональной биодобавки представлена в таблице 34.

Таблица 34 – Экономическая эффективность при скармливании функциональной биодобавки

Показатель	Группа		
	Контроль	Опытная 1	Опытная 2
Прирост живой массы перепелов 1-49 сутки			
Одной головы в среднем, г	305,15	339,62	334,80
Среднесуточный, г	6,22	6,93	6,83
Всего поголовья, кг	14,34	16,64	16,45
Затраты комбикорма за период выращивания 1-49 сутки			
На 1 голову, г	893,36	871,28	875,64
На 1 кг прироста, г	2,93	2,56	2,62
На всё поголовье, кг	44,67	43,56	43,78
Затраты пробиотических биодобавок 1-49 сутки			
Всего, кг	-	1,306	1,313
Экономическая эффективность 1-49 сутки			
Цена 1 кг комбикорма, руб	25,20		
Стоимость израсходованного корма, руб.	1125,63	1097,81	1103,31
Стоимость израсходованной биодобавки, руб	-	15,15	14,18
Стоимость израсходованного корма и биодобавки, руб	1125,63	1112,96	1117,49
Цена реализации 1 кг мяса перепелов, руб.	350,0		
Выручка от реализации мяса птицы, руб.	5019,00	5824,00	5757,50
Прибыль от реализации мяса птицы, руб.	3893,37	4726,19	4654,19
Экономический эффект от использования пробиотических биодобавок к контролю, руб.	-	832,82	760,82
%	100	121,39	119,54

Примечание: * – разница с контролем достоверна, $P < 0,05$

При применении предлагаемых функциональных биодобавок снизились затраты корма на 1 кг прироста живой массы на 2,48 % и 1,99 % соответственно. Кроме того, по сравнению с контрольной группой в 1-й опытной группе экономический эффект с использованием функциональной биодобавки увеличивается, прибыль составила 4726,19 руб, что выше контрольной группы на 21,39 %, во 2-й опытной группе прибыль составила 4654,19 руб, что выше контрольной на 19,54 %.

4 РЕЗУЛЬТАТЫ ПРОИЗВОДСТВЕННОЙ АПРОБАЦИИ

Для проверки результатов научно-хозяйственных опытов была произведена производственная апробация в условиях КФХ Цыганок Л. Э., г. Краснодар, х. Копанской, Почтовое отделение №85.

Задачей производственной апробации являлось установить влияние двух кормовых биодобавок: пропионовокислых микроорганизмов и синбиотическую биодобавку азотобактера с пропионовокислыми микроорганизмами в соответствии с лучшими показателями процентного введения установленными ранее. Продолжительность опыта составила 42 суток. Опытной группе перепелов породы Техасская белая к основному рациону вводили биодобавки и прослеживали динамику роста и развития перепелов при аналогичных условиях исследования в контрольной и опытной группе. В основу рационов птицы положены те же корма, что и используемые в проведенных ранее двух научно-хозяйственных опытах. Условия содержания соответствовали рекомендациям проведения опыта ВНИТИП [46].

Проводились основные расчеты и фиксировались следующие показатели птицы: изменение живой массы, мясная продуктивность, среднесуточные приросты и сохранность перепелов, конверсия корма и затраты питательных веществ, переваримость основных питательных веществ комбикормов, морфо-физиологические параметры развития внутренних органов у птицы, гематологические и биохимические показатели крови перепелов, оценка мясных качеств тушек перепелов, особенности развития микрофлоры желудочно-кишечного тракта у подопытных перепелов, расчет экономической эффективности.

Дозировки внесения в рацион перепелов составили 2,0 % в период 1–21 сутки 2,5 % с 21 по 42 сутки.

В таблице 35 представлены основные зоотехнические показатели при выращивании перепелов.

Таблица 35 – Зоотехнические показатели при выращивании перепелов, n = 300

Показатель	Группа	
	Контроль	Опыт
Количество голов в начале опыта, гол	300	300
Количество голов на 42-е сутки, гол	281	289
Сохранность, %	93,6	96,4
Динамика живой массы 1-е – 42-е сутки, г		
1-е сутки	9,81±0,10	9,77±0,12
7-е сутки	45,34±0,32	52,05±0,35
14-е сутки	112,65±2,15	119,27±2,47
21-е сутки	177,34±3,26	192,39±3,50
28-е сутки	248,70±5,32	263,45±5,83
35-е сутки	269,68±5,58	295,74±5,66
42-е сутки	301,85±5,72	324,21±5,91
Прирост живой массы перепелов 1-е – 42-е сутки		
Одной головы в среднем, г	292,04	314,44
Среднесуточный, г	6,95	7,48
Всего поголовья, кг	82,06	90,87
Масса потрошенной тушки на 42 сутки		
От 1-й головы, г	221,85±4,51	236,69±4,91
От всего поголовья, кг	62,33±4,99	68,40±4,54
Затраты комбикорма за период выращивания 1-е – 42-е сутки		
На 1 голову, г	950,00	926,82
На 1 кг прироста, г	3,25	2,86
На всё поголовье, кг	266,95	267,85

По результатам производственной апробации сохранность птицы в контрольной группе составила 93,6 % в опытной группе 96,4 %, то есть выше контрольной на 2,8 %. Живая масса опытной группы была выше контрольной на 7,67 %. В опытной группе отмечается снижение затрат кормов на 2,44 % относительно контрольной группы.

На 42-е сутки был произведен забор крови у 10 птиц каждой группы для анализа гематологических и биохимических показателей сыворотки крови.

Гематологические и биохимические показатели сыворотки крови исследуемой птицы показывают, что патологических и воспалительных процессов в организме не выявлено, все показатели сыворотки крови перепелов находятся в пределах физиологической нормы. Данные результаты показывают эффективность использования разработанной функциональной биодобавки в птицеводстве. Показатели мочевины, АСТ во всех группах находились в пределах

нормы, что показывает отсутствие глубоких патологий печени птицы в обеих группах. Результаты анализа крови отражены в таблице 36.

Таблица 36 – Результаты общего и биохимического анализа крови птицы, n=10

Показатель	Группа	
	Контрольная	Опытная
Общий анализ крови		
Гемоглобин (Hb), г/л	128,16±1,60	130,01±1,08
Эритроциты (RBC), 10 ¹² /л	3,53±0,28	3,62±0,26
Лейкоциты (WBC), 10 ⁹ /л	17,96±1,19	16,42±0,70
Тромбоциты, 10 ¹⁰ /л	11,10±0,52	10,25±0,45
Биохимия крови		
АЛТ (Аланинаминотрансфераза), Ед/л	10,70±0,76	11,80±0,63
АСТ (Аспаратаминотрансфераза), Ед/л	268,40±7,34	282,05±7,56
Глюкоза, ммоль/л	9,32±0,65	8,39±0,51
Мочевая кислота, ммоль/л	286,54±6,12	274,23±6,20
Холестерин, ммоль/л	4,06±0,15	3,99±0,14
Фосфор, ммоль/л	2,15±0,10	1,99±0,11
Кальций, ммоль/л	2,12±0,17	2,26±0,16
Общий белок, г/л	32,56±0,45	34,96±0,12
Альбумины, г/л	13,84±0,36	14,38±0,69
Глобулины, г/л	17,64±0,42	17,19±0,49

Для анализа мясной продуктивности птицы в 42-х дневном возрасте было отобрано по 5 самцов и 5 самок из каждой группы и проведен убой.

Таблица 37 – Мясная продуктивность при применении функциональной биодобавки, n = 10

Показатель	Контроль	Опытная
Живая масса перед убоем, г	292,04±5,95	333,5±5,22
Масса тушки птицы после обескровливания, г	282,11±4,65	306,26±4,86
Масса непотрошеной тушки, г	257,00±5,05	288,03±4,92
Масса потрошеной тушки, г	190,99±3,98	231,11±3,84
Масса бедренных мышц, г	25,99±2,32	27,04±2,41
Мышцы голени, г	12,56±1,64	13,84±1,77
Грудные мышцы, г	60,16±2,41	67,29±2,68
Остальные мышцы, г	7,01±0,98	7,23±1,06
Всего съедобных мышц, г	106,30±2,92	119,17±2,99

Живая масса птицы опытной группы выше контрольной на 22,40 г, масса потрошенных тушек на 24,15 г или 7,89 %. Мясные качества перепелов оценивали

по объему съедобных частей тушки. Суммарный процент массы съедобных мышц перепелов опытной группы превышал контрольную на 12,87 г или 10,8 %.

Расчет экономической эффективности при применении функциональной биодобавки за период выращивания 1–42 сутки представлен в таблице 38.

Таблица 38 – Экономическая эффективность при применении биодобавки

Показатель	Группа	
	Контроль	Опыт
Количество голов в начале опыта, гол	300	300
Количество голов на 42-е сутки, гол	281	289
Сохранность, %	93,6	96,3
Среднесуточный прирост живой массы перепелов 1-е – 42-е сутки, г	6,95	7,48
Затраты комбикорма за период выращивания 1-е – 42-е сутки		
На 1 голову, г	950,00	926,82
На 1 кг прироста, г	3,25	2,86
На всё поголовье, кг	266,95	267,85
Затраты пробиотических биодобавок 1-е – 42-е сутки		
Всего, кг	-	27,80
Экономическая эффективность 1-е – 42-е сутки		
Цена 1 кг комбикорма, руб	25,20	
Стоимость израсходованного корма, руб	6727,14	6749,82
Стоимость израсходованной биодобавки, руб	-	322,48
Стоимость израсходованного корма и биодобавки, руб	6727,14	7072,30
Цена реализации 1 кг мяса перепелов, руб	350,0	
Выручка от реализации мяса птицы, руб	28721,00	31804,50
Прибыль от реализации мяса птицы, руб	21993,86	24732,20
Экономический эффект от использования биодобавки к контролю, руб	-	2738,34
%	100	112,45

Примечание: * – разница с контролем достоверна, $P < 0,05$

Экономическая эффективность при применении предлагаемой функциональной биодобавки показала снижение затрат корма на 1 кг прироста живой массы на 5,13 %. Кроме того, в опытной группе по сравнению с контрольной экономический эффект с использованием функциональной биодобавки увеличивается, прибыль составила 2738,34 руб, что выше контрольной группы на 12,45 %.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Выводы:

1. Совместное культивирование и лучший сбалансированный рост изучаемых микроорганизмов наблюдается при соотношении *Pr. shermanii* с *Az. vinelandii*, *Pr. shermanii* с *Az. chroococcum* 2:1. Выявлена положительная динамика роста бактерий при введении в среды томатного сока и кукурузного сиропа вместо глюкозы. Антимикробный эффект данных бактерий усиливается при синбиотических взаимоотношениях. Оптимальные значения pH для выбранного консорциума микроорганизмов от 5,5 до 7, при pH = 6,5 получены самые высокие титры *Pr. shermanii* $4,3 \times 10^{10}$ КОЕ и *Az. vinelandii* $3,9 \times 10^8$ КОЕ.

2. В качестве лучшего сырья для твердофазного этапа получения кормовой биодобавки была выбрана пивная дробина, показавшая результаты по титрам *Pr. shermanii* $5,2 \times 10^9$ КОЕ/мл и *Az. vinelandii* $9,2 \times 10^7$ КОЕ на 1 сутки, и 95 % живых клеток относительно начальных титров на 5 сутки, а в разработанной технологии твердофазной ферментации применен перлит в качестве наполнителя в соотношении 1:1 по объему к пивной дробине и закваска *Pr. shermanii* с *Az. vinelandii* в количестве 3 % от объема пивной дробины, при её pH = 6,5.

3. Исследование токсикологических свойств биодобавки характеризует ее как нетоксичную. По результатам исследования токсичность в опытных группах составила 97,83 % и 97,85 %, в результате эксперимента на мышах не было зафиксировано гибели и заболевших животных во всех исследуемых группах.

4. Оценка эффективности полученной функциональной биодобавки в рационе перепелов показала в первом научно-хозяйственном опыте, что оптимальной дозой внесения в рацион при выращивании в клеточных условиях является 2,0 % в период 1–21 сутки, 2,5 % с 21 по 42 сутки и 3,0 % после 42 суток. Во втором научно-хозяйственном опыте во 2-й группе получавшей функциональную биодобавку 1 приросты массы были на 11,3 % больше контрольной группы, в 3-й группе, получавшей функциональную биодобавку 2 на 9,7 % больше контрольной группы при 98 % сохранности птицы в обеих группах

и затратах корма меньше на 12,6 и 10,6 % ниже соответственно. Конверсия в среднем была выше на 9,1 % при применении функциональной биодобавки 1, и 10,3 % при применении функциональной биодобавки 2.

5. Выяснено, что при введении в рацион функциональных биодобавок 1 и 2 переваримость протеина в сравнении с контрольной группой повысилась на 4,4 % в 1-й опытной группе и на 5,8 % во 2-й, клетчатки на 1,1 % в 1-й группе и незначительно во 2-й. Процент переваримости жира повысился на 3,0 и 4,1 % по группам соответственно. Исследование помета на содержание культуры азотобактера показало титры клеток 10^4 КОЕ/см³ на 6 сутки, снижение запаха в помещении. Также наблюдалось снижение титра кишечной палочки с 10^3 КОЕ/мл до 10^2 КОЕ/мл.

6. По результатам гематологического исследования перепелов все исследуемые показатели крови у находились в границах физиологической нормы. Незначительно разнились уровни холестерина и содержание фосфора в крови перепелов 1-й и 2-й опытных групп по сравнению с контролем, снизилось на 6,13 и 3,3 %, кальция на 7,22 и 4,94 % соответственно. Не наблюдалось также достоверной разницы в показателях АЛТ, АСТ, альбуминов, мочевины и общего белка в группах, что свидетельствует о нормальном обмене веществ у птицы во всех группах.

7. Развитие внутренних органов перепелов показывает, что все органы находились в пределах границ физиологической нормы, существенных различий по их массе в опытных группах не выявлено. Однако размеры печени оказались меньше контрольной группы в 1-й опытной группе на 11,3 %, во 2-й на 15,6 %. При анализе клеток печени в контрольной группе обнаружена кровенаполненность сосудов, околосоудистая пролиферация, лизис клеток и дистрофия печени. В 1-й опытной группе лизиса и дистрофии не обнаружено, а во 2-й опытной группе показан только лизис клеток.

8. Оценка мясных качеств показала, что масса потрошенных тушек птицы была выше контрольной группы в 1-й опытной группе на 1,4 %, во 2-й – на 0,3 %. Суммарный процент массы съедобных мышц перепелов превышал контрольную

на 4,1 % в 1-й группе и на 4,4 % во 2-й. В 1-й и 2-й опытных группах снижено количество абдоминального жира относительно контрольной группы на 11,3 и 8,9 % соответственно. Энергетическая ценность мяса перепелов во всех группах колебалась в пределах 552–565 кДж, однако в опытных группах она выше на 2,4 % и 1,8 % соответственно.

9. Расчет экономической эффективности показал, что при применении изучаемых функциональных биодобавок снизились затраты корма на 1 кг прироста живой массы на 2,48 % и 1,99 % соответственно. Кроме того, по сравнению с контрольной, в 1-й опытной группе экономический эффект с использованием функциональной биодобавки увеличивался и прибыль составила 4726,19 руб, а во 2-й группе 4654,19 руб, что выше контрольной группы на 21,39 и 19,54 % соответственно.

ПРЕДЛОЖЕНИЯ ПРОИЗВОДСТВУ

С целью повышения эффективности производства продуктов перепеловодства рекомендуем в составе полнорационных комбикормов скармливать разработанную кормовую биодобавку, по следующей схеме: 2 % от массы корма в период с 1-х по 21-е суток, 2,5 % с 22-х по 41-е сутки, 3 % для птицы старше 42-х суток.

ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ

Предлагаемое решение позволяет создать дешевую, удобную в применении, экологически безопасную, функциональную биодобавку на основе биоконверсии не дорогого растительного сырья и заквасок на основе полезной микрофлоры, дающую возможность свести к минимуму использование некоторых дорогих синтетических аминокислот, витаминов, ферментов и сопутствующих минералов и максимально использовать региональный набор растительного сырья. Это позволит получить высокий уровень продуктивности животных при обеспечении высокого качества мяса, яиц и максимальной пригодности их к переработке с одновременным снижением затрат на производство.

Разработанная биодобавка обладает функциональными свойствами, применимыми к интенсивному птицеводству, она совместима с современными технологиями приготовления кормов и кормления птицы.

Биодобавка получена на побочных продуктах переработки, что позволит решить проблему снижения затрат на их утилизацию. За счет синбиотического консорциума микроорганизмов с пробиотическими свойствами, повышается переваримость питательных веществ и усвояемость кормов, повышается неспецифический иммунитет, что в конечном счете стимулирует рост и развитие птицы.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Артюхова, С.И. Научно-экспериментальное обоснование новых биотехнологий синбиотических молочных продуктов. Автореферат. докт. техн. наук. – Улан-Удэ. – 2006. – 43 с.
2. Бараников, В. А. Применение пробиотика при выращивании поросят-сосунов / В. А. Бараников, Н. А. Пышманцева // Ветеринария Кубани. – 2013. – № 1. – С. 23-24.
3. Белозерова, Л. М. Разработка технологии кисломолочного продукта с использованием пропионовокислых бактерий: автореф. дис. ... канд. техн. наук. – Улан-Уде. – 2000. – 36 с.
4. Бевзюк, В. Н. Повышение эффективности использования белковых и растительных кормов в мясном птицеводстве / В.Н. Бевзюк / Птица и птицепродукты. – 2003. – №4
5. Бондаренко, В. М. Дисбиозы и препараты с пробиотической функцией / В. М. Бондаренко, А. А. Воробьев // Журн. Микробиол. 2004. – №1. – С. 84-92.
6. Вербина, Н. М. Микробиология пищевых производств / Н. М. Вербина, Ю. В. Каптерёва // – М. : изд. Агропромиздат. – 2008.
7. Волкова, Г. С. Биотрансформация растительного сырья при силосовании кормов с помощью бактериальной закваски / Г. С. Волкова, Е. В. Куксова // В сборнике: Перспективные ферментные препараты и биотехнологические процессы в технологиях продуктов питания и кормов ВНИИПБТ. – 2016. – С. 283-290.
8. Волкова, Г. С. Биотехнологические основы получения комплексных биологически активных добавок с защитно-профилактическими свойствами / Г. С. Волкова, Е. В. Куксова, Л. В. Римарева // В сборнике: Биотехнологии в комплексном развитии регионов материалы международной научно-практической конференции. – 2016. – С. 90.

9. Волкова, Е. А. Влияние пробиотического и витаминного препаратов на мясную продуктивность и качество мяса индюшат / Е. А. Волкова, А. Я. Сенько // Птица и птицепродукты. – 2010. – № 3. – С. 33–35.
10. Воробьева, Л. И. Антимутагенность как дополнительное свойство пропионовокислых бактерий для использования в пище и в процессинге пища / Л. И. Воробьева, Е. Ю. Ходжаев, Г. М. Пономарева, С. Ю. Варюхина // 3rd International Conference on Predictive Modelling in Foods. – Бельгия. – 2000. – С. 182–184.
11. Воробьева, Л. И. Антистрессовое перекрестное действие внеклеточных метаболитов бактерий, архий и дрожжей / Л. И. Воробьева, Е. Ю. Ходжаев, Т. М. Новикова // Прикладная биохимия и микробиология. – 2013. – Т. 49. – № 4. – С. 333-344.
12. Воробьева Л.И., Абилов С. К. Антимутагенные свойства бактерий. // Прикладная биохимия и микробиология. Том.38. – 2002. – №2. – С. 115-127.
13. Воробьева, Л. И. Новые применения пропионовокислых бактерий. / Л. И. Воробьева, Е. Ю. Ходжаев, Г. М. Пономарева, С. Ю. Варюхина // International Symposium "Propionibacteria". Zürich, Switzerland. – 2001. – P. 12.
14. Воробьева, Л. И. Характеристика и стрессозащитное действие внеклеточных пептидных факторов *Saccharomyces cerevisiae* на пропионовокислые бактерии / Л. И. Воробьева, Е. А. Рогожин, Е. Ю. Ходжаев, Р. А. Володяшкин, В. А. Самойленко // Микробиология. – 2017. – Т. 86. – № 6. – С. 684-695.
15. Воробьева, Л. И. Ингибирование индуцированного мутагенеза у *Salmonella typhimurium* белком *Propionibacterium freudenreichii subsp. shermanii*. / Л. И. Воробьева, О. В. Ильясова, Е. Ю. Ходжаев, Г. М. Пономарева, С. Ю. Варюхина // Anaerobe. – 2001. – V.7. – P. 37-44.

16. Воробьева, Л. Антистрессовая активность *Propionibacterium freudenreichii* subsp. *shermanii*: идентификация реактивирующего белка / Л. Воробьева, П. Леверриер, А. Зинченко, П. Боявал, Е. Ходжаев, С. Варюхина, Г. Пономарева, Е. Гордеева, Г. Ян // *Antonie Van Leeuwenhoek*. – 2004. – V 85. – № 1. – P. 53-62.

17. Воробьева, Л. И. Антимутагенность пропионовокислых бактерий / Л.И. Воробьева и др. // *Микробиология*. – 1991. – Т. 60. – № 6. – С. 83-89.

18. Воробьева Л.И. Пропионовокислые бактерии / Л.И. Воробьева. – М. : Изд-во МГУ, 1995. – 288 с.

19. Гаврилова, Н. Н. Создание и производство новых пробиотиков на основе бактериальных культур: автореф. дис. ... д-ра биол. наук. – Ташкент. – 1993. – 46 с.

20. Гаврилова, Н. Н. Оптимизация питательной среды для культивирования ассоциации из молочнокислых и пропионовокислых бактерий / Н. Н. Гаврилова, И. А. Ратникова, К. Баякышова // *Биотехнология. Теория и практика*. – 2006. – № 3. – С. 83-87.

21. Гаврилова, Н. Н. Влияние соотношения углерода и азота в питательной среде на состав липидов молочнокислых и пропионовокислых бактерий / Н. Н. Гаврилова, И. А. Ратникова, Л. П. Треножникова, Л. И. Захаренко, К. Баякышова., А. Х. Хасенова // *Биотехнология. Теория и практика*. – 2006. – № 3. – С. 74-82.

22. Гадиев, Р. Р. Биостимулятор в рационе гусей / Р. Р. Гадиев, И. А. Рахимов, Г. А. Гумарова // *Птица и птицепродукты*. – 2010. – № 4. – С. 38-40.

23. Гадиев, Р. МЭЖ в комбикормах с подсолнечной лузгой / Р. Гадиев, Д. Хазиев, В. Билалова / *Комбикорма*. – 2008. – №7

24. Патент 1737915 РФ. Штамм бактерий *Propionibacterium shermanii* – продуцент витамина В12 / Т.В. Ганичева, В.Д. Грузина, Г.М. Пароникян и др.; Курганский комбинат медицинских препаратов и изделий «Синтез». – №4806695; Заяв. 26.03.1990; Оpubл. 30.11.1994; Бюл. № 13.

25. Гайдук, А. Г. Пробиотик Витафорт в рационах утят / А. Г. Гайдук, Ф. С. Хазиахметов // Птицеводство. – 2011. – № 12. – С. 27-30.
26. Галкина, Г. В. Штамм *Propionibacterium freudenreichii* subsp. *shermanii* – продуцент кормового белка / Г.В. Галкина, В.И. Илларионова, Е.В. Куксова, Е.Б. Горбатова, Г.С. Волкова, С.Н. Шевандин // Патент RU № 2247149. – 2003. Оpubл. 27.02.05.
27. Герасименко, Л. М. Микробные сообщества. Биология термофильных организмов. / Л. М. Герасименко, Г. А. Заварзин, // М. : Наука. – 2006. – С. 22-25.
28. Гизатов, А. Я. Производство мясных продуктов с использованием пропионовокислых бактерий / А. Я. Гизатов, Н. В. Гизатова // В сборнике: ЕС–Россия: 7-я рамочная программа в области биотехнологии, сельского, лесного, рыбного хозяйства и пищи. – 2010. – С. 96-98.
29. Гильванов, М. М. Использование пробиотиков Витафорт и Лактобифадол при выращивании утят-бройлеров / М. М. Гильванов, А. Ф. Хабилов // Птицеводство. – 2013. – № 8. – С. 26-29.
30. Глушанова, Н.А. Способ получения жидкого лактобактерина / Н. А. Глушанова, А. И. Блинов, Б. М. Дворецкий // патент на изобретение RUS 2244744 27.11.2002
31. Гнеуш, А. Н. Применение ферментной кормовой добавки «Микозим СП+» в рационе перепелов / А. Н. Гнеуш, Ю. А. Лысенко, Н. И. Петенко // Молодой ученый. – 2015. – № 3. – С. 363-366.
32. Голунова, О. В. Технология приготовления и оценка эффективности кормовой добавки «Бион»: дис... канд. биол. наук: 03.00.23 / О. В. Голунова. М. : – 2009. – 121 с.
33. Госманов, Р.Г. Микробиология. / Р. Г. Госманов, А. К. Галиуллин, А. Х. Волков, А. И. Ибрагимова. – СПб.: Лань. – 2011. – 496 с.
34. Гулюшин, С. Ю. Эффективность применения пребиотика Агримос в комбикормах для бройлеров / С. Ю. Гулюшин // Птицеводство. – 2010. – № 5. – С. 11–12.

35. Данилевская, Н. Пробиотик: действие на перепелов разных пород / Н. Данилевская, В. Субботин // Птицеводство. – 2005. – № 8. – С. 14-15.
36. Дмитриев, В. М. Патент РФ 2390517. Способ приготовления бактериального удобрения на основе бактерий рода *Azotobacter* / В. М. Дмитриев, Е. В. Скрипникова, М. К. Скрипникова, Г. А. Угодчиков, В. Н. Яценко; Заявл. 23.07.2008. Опубл. 27.05.2010. Бюл. №8.
37. Донник, И. М. Состояние желудка и кишечника цыплят-бройлеров при использовании пробиотического препарата Моноспорин / И. М. Донник, И. А. Лебедева // Ветеринария Кубани. – 2011. – № 3. – С. 15-16.
38. Драчева, Л. В. Вольтамперометрическое исследование антиоксидантной активности жидких культур пропионовокислых бактерий / Л. В. Драчева, Е. В. Дорожко, О. А. Аврамчук, Е. И. Короткова, Е. П. Рыжкова, Хао Ли, И. В. Данилова // Вестник Московского университета. Биология. – 2009. – № 4. – С. 24-28.
39. Дурникин, Д. А., Стимуляция ультразвуком накопления биомассы молочнокислых и пропионовокислых бактерий при глубинном культивировании / Д. А. Дурникин, М. М. Силантьева, О. В. Ерещенко // Біологічний вісник Мелітопольського державного педагогічного університету ім. Богдана Хмельницького. – 2016. – Т. 6. – № 2. – С. 287-293.
40. Егоров, И. А. Использование подсолнечного шрота с пробиотиком Ферм КМ / И. А. Егоров [и др.] // Птицеводство. – 2011. – № 1. – С. 31-33.
41. Егоров, И. Эффективность пробиотика Терацид С / И. Егоров, Ш. Имангулов, К. Харламов // Птицеводство. – 2007. – № 6. – С. 56.
42. Елинов, Н. П. Основы биотехнологии: Книга для студентов институтов, аспирантов и практических работников / Н. П. Елинов. – СПб.: Издательская фирма «Наука». – 1995. – 600 с.
43. Емцев, В. Т. Микробиология: Учебник для вузов / В. Т. Емцев, Е. Н. Мишустин. – 5-е изд., перераб. и доп. – М.: Дрофа. – 2005. – 445 с.

44. Заика, С. Н. Особенности гемодинамики печени при витамин - В12 - дефицитной анемии / С. Н. Заика, Н. Н. Жилкова, В. Г. Сейидов. // Здоровье. Медицинская экология. Наука. – 2012. – № 1–2. – С. 47-48.

45. Зинина, О. В. Пропионовокислые бактерии в технологии мясопродуктов / О. В. Зинина, К. А. Бажина // Сборник научных трудов SWorld. – 2014. – Т. 32. – № 2. – С. 38-42.

46. Имангулов, Ш. А. Методика проведения научных и производственных исследований по кормлению сельскохозяйственной птицы. Рекомендации / Ш. А. Имангулов, И. А. Егоров, Т. М. Околелова, А. Н. Тищенко // ВНИТИП. – Сергиев Посад. – 2004. – 42 с.

47. Истошина, Н. Ю. Вторичное растительное сырьё как перспектива расширения кормовой базы комбикормов / Н. Ю. Истошина, Н. В. Солонникова // Научные труды Кубанского государственного технологического университета. – 2015. – № 3. – С. 200-211.

48. Ильин, Д. Ю. Основы биотехнологии переработки сельскохозяйственной продукции / Г. В. Ильина, Д. Ю. Ильин // РИО ПГА. – Пенза. – 2017. – 88 с.

49. Иркитова, А. Н. Жизнеспособность клеток *Lactobacillus acidophilus* и *Propionibacterium freudenreichii* при совместном и раздельном культивировании // Технологии пищевой и перерабатывающей промышленности АПК-продукты здорового питания. – 2015. – № 1. – С. 84-89.

50. Исаева, А. В. Пропионовокислые бактерии и их особенности / А. В. Исаева // Международный академический вестник. – 2018. – № 3 (23). – С. 64-66.

51. Калугин, С. В. Комплексный препарат «Авилакт форте» на основе пробиотика для птицеводства: разработка и доклинические исследования : автореф. дис. ... канд. биол. наук / С. В. Калугин. – Щелково, 2005. – 26 с.

52. Киселева, Н. Подсолнечниковая лузга в кормлении с-х животных / Н. Киселева, Г. Лаптев, Ю. Мудрова / М.: Животноводство России. – 2001. – №9.

53. Клетикова, Л. В. Лактур в кормлении цыплят и кур / Л. В. Клетикова, О. Ю. Копоть // Птицеводство. – 2011. – № 1. – С. 37-38.
54. Кобцева, Л. А. Влияние кормовых добавок на снижение уровня токсичности комбикорма для цыплят-бройлеров / Л. А. Кобцева, Р. Ю. Килин, К. Я. Мотовилов, Н. Н. Ланцева, А. Н. Швыдков // Кормление сельскохозяйственных животных и кормопроизводство. – 2014. – №6. – С. 14-21.
55. Коростелёва, Л. А. Основы экологии микроорганизмов / Л. А. Коростелёва, А. Г. Кощачев // – СПб.: Лань. – 2013. – 240 с.
56. Костина, Е. Г. Влияние источников азотного питания на рост и накопление экзополисахарида культурой *Azotobacter vinelandii* δ -05. / Е. Г. Костина, М. А. Спогреева, В. В. Ревин // Достижения и перспективы развития биотехнологии: Материалы междунар. науч. конф. ООО «Мордовия – Экспо». – Саранск. – 2012. – С.26.
57. Костина, Е. Г. Влияние концентрации глюкозы в питательной среде на накопление альгината культурой *Azotobacter vinelandii* / Е. Г. Костина, В. В. Ревин // Сборник научных трудов SWorld. Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарёва. – 2012. – Т.45 – № 4. – С. 93-94.
58. Кощачев, А. Кормовые добавки на основе живых культур микроорганизмов / А. Кощачев, А. Петенко, А. Калашников // Птицеводство. – 2006. – № 11. – С. 43-45.
59. Кощачев, А. Г. Интенсификация птицеводства с применением пробиотических кормовых добавок / А. Г. Кощачев, Ю. А. Лысенко, Т. М. Шуваева, В. В. Радченко, Е. В. Ильницкая // Ветеринария Кубани. – 2015. – № 5. – С. 7-10.
60. Кощачев, А. Г. Экологизация продукции птицеводства путем использования пробиотиков как альтернативы антибиотикам / А. Г. Кощачев // Юг России: экология, развитие. – 2007. – № 3. – С. 93-97.
61. Кощачев, А. Г. Научное обоснование и результаты применения пробиотиков на основе спорообразующих бактерий: монография / И. А. Лебедева, Л. И. Дроздова, Ю. А. Лысенко // Краснодар. – 2015. – 366 с.

62. Кощаев, А. Г. Эффективность использования бактериальных кормовых добавок в промышленном птицеводстве / А. Г. Кощаев Г. В. Фисенко, А. И. Петенко // Труды Кубанского государственного аграрного университета. – 2009. – № 4 (19). – С. 176-180.

63. Климова, Е. В. Контроль токсичности растениеводческого пищевого сырья и кормов [загрязнение тяжелыми металлами, остатками пестицидов и микотоксинами] / Е. В. Климова // Экологическая безопасность в АПК. Реферативный журнал. – 1999. – № 2. – С. 257.

64. Красникова, Л. В. Микробиология молока и молочных продуктов: Лабораторный практикум / Л. В. Красникова, П. И. Гунькова, В. В. Маркелова // Учеб.-метод. пособие. СПб.: НИУ ИТМО; ИХиБТ. – 2013. – 85 с.

65. Крюков, В. Подсолнечная лузга и ферменты / В. Крюков, В. Бевзюк // Комбикормовая промышленность. – 1997, – №4. – С. 30

66. Кузнецова, Т. В. Выделение и селекция пропионовокислых бактерий, перспективных для использования в биотехнологии / Т. В. Кузнецова, М. Г. Саубенова, Г. А. Имашпаева // Приволжский научный вестник. – 2015. – №9 (49). – С.16-20

67. Лаврухина, О. И., риски загрязнения пищевых продуктов на различных стадиях их производства / О. И. Лаврухина, В. Г. Амелин, Л. Б. Прохватилова, О. И. Ручнова // Ветеринария сегодня. – 2017. – № 3 (22). – С. 33-39.

68. Лукашенко, В. С. Повышение качества мяса бройлеров с помощью пробиотиков / В. С. Лукашенко [и др.] // Птицеводство. – 2011. – № 9. – С. 57-58.

69. Лысенко, Ю. А. Использование пробиотических кормовых добавок в перепеловодстве / Ю. А. Лысенко, А. И. Петенко // Материалы международной научной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых «Знания молодых для развития ветеринарной медицины и АПК страны». – СПб. : ФГБОУ ВПО «СПбГАВМ». – 2012. – С. 122-125.

70. Лысенко, Ю. А. Пробиотическая кормовая добавка для повышения продуктивности и биобезопасности продукции птицеводства / Ю. А. Лысенко, А. И. Петенко // Научно-техническое творчество молодежи – путь к обществу, основанному на знаниях: мат. VI Международ. науч.-практ. конф. – М. : Изд-во МГСУ, 2014. – С. 440-444.

71. Лысенко, Ю. А. Пробиотическая кормовая добавка как альтернатива антибиотикам / Ю. А. Лысенко, А. В. Лунева // Аграрная наука – сельскому хозяйству: мат. X Междунар. науч.-практ. конф. – Барнаул: РИО АГАУ, 2015. – С. 265-266.

72. Лысенко, Ю. А. Изучение влияния пробиотической кормовой добавки «Промомикс С» на продуктивность и биобезопасность продукции птицеводства / Ю. А. Лысенко, А. В. Лунева // Общество Науки и Творчества: мат. Междунар. науч.-практ. конф. – Казань («ScienceTime»). – 2014. – Вып. 5. – С. 112-122.

73. Магданова, Л. А. Гетерогенность как адаптивное свойство бактериальной популяции / Л. А. Магданова, Н. В. Голясная // Микробиология.– 2013. – Т. 82. – № 1. – С. 3-13.

74. Максим, Е. А. Способы повышения продуктивности рационов при помощи кормовых добавок / Е. А. Максим [и др.] // Труды Кубанского государственного аграрного университета. – 2014. – № 47. – С. 109-112.

75. Марченко, В. В. Отечественный пробиотический препарат и продуктивные качества цыплят-бройлеров / В. В. Марченко, В. Н. Чернецов, А. И. Зарытовский // Ветеринария Кубани. – 2013. – № 3. – С. 23-25.

76. Марченко, В. В. Влияние комплексного препарата и пробиотика на естественную резистентность и жизнеспособность ремонтного молодняка кур / В. В. Марченко [и др.] // Ветеринария Кубани. – 2013. – № 4. – С. 21-22.

77. МУ 2.3.2.2789-10. Методические указания по санитарно-эпидемиологической оценке безопасности и функционального потенциала пробиотических микроорганизмов, используемых для производства пищевых продуктов. – М. : Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора. – 2011. – 104 с.

78. Мильнер, М. Л. Кормовая ценность подсолнечниковой лузги для цыплят-бройлеров / М. Л. Мильнер, Э. А. Харченко, А. В. Тоичкина // Вопросы кормления сельскохозяйственных животных. – 2007. – С. 56-60.

79. Митыпова, Н. В. Разработка технологии концентрированной закваски на основе симбиоза пробиотических бактерий : диссертация ... кандидата технических наук : 05.18.07.- Улан-Удэ, 2007.- 167 с.: ил. РГБ ОД, 61 07-5/1885

80. Москвичева, Е. В., Сорбционно-фильтрующий материал на основе отхода производства / Е. В. Москвичева, Д. О. Игнаткина, А. В. Москвичева // В сборнике: Технологии очистки воды "Техновод-2017". – 2017. – С. 214-219.

81. Мусихина, Т. А. Экологический менеджмент для экологической безопасности и рационального природопользования / Т. А. Мусихина, О. А. Шмакова // В сборнике: Всероссийская ежегодная научно-техническая конференция "Общество, наука, инновации" (НТК-2012). Ответственный редактор: Литвинцев С.Г. – 2012. – С. 1859-1863.

82. Насонов, И. В. Методические рекомендации по гематологическим и биохимическим исследованиям у кур современных кроссов / Н. В. Буйко, Р. П. Лизун, В. Е. Волыхина, Н. В. Захарик, С. М. Якубовский // Минск. – 2014. – С. 32.

83. Нетрусов, А. И. Практикум по микробиологии: учебное пособие для студентов высших учебных заведений / А. И. Нетрусов, М. А. Егорова, Л. М. Захарчук и др. // под. ред. А.И. Нетрусова. – М.: Изд. Академия. – 2005. – 608 с.

84. Неронова, Е. Ю. Бифидобактерии лактобациллы или пропионовокислые–мутуализм пробиотических культур по отделам ЖКТ / Е. Ю. Неронова, В. И. Носкова, А. Л. Новокшанова, И. С. Полянская, Е. С. Шигина // В сборнике: Наука, образование, общество: актуальные вопросы и перспективы развития: в 4 частях. – ООО АР-Консалт. – 2015. – С. 30-32.

85. Околелова, Т. М. Новое в использовании подсолнечного лузги в комбикормах для птицы / Т. М. Околелова, С. А. Молоскин // Комбикорма. – 2002. – №3.

86. Павлов, И. Н. Исследование некоторых основных факторов, определяющих получение сухих препаратов пропионовокислых бактерий / И. Н. Павлов, О. Н. Гора // Техника и технология пищевых производств. – 2011. – №4.

87. Пепелина, В. А. Влияние микробных подкормок из азотобактера и молочнокислых бактерий на рост цыплят и микрофлору желудочно-кишечного тракта: автореф. дис. ... канд. биол. наук / В. А. Пепелина. – Боровск. – 1969. – 19 с.

88. Перекатова, Т. Н. Еще раз о дефиците витамина В12 // Т. Н. Перекатова, М. Н. Остроумова. Клиническая онкогематология. – 2009. – Т.2. – № 1. – С. 185-195

89. Петенко, А. И. Биохимические и микробиологические аспекты получения биопродуктов и фармпрепаратов и эффективность их применения в птицеводстве / А. И. Петенко, С. Б. Хусид, И. С. Жолобова, Г. А. Плутахин, Ю. А. Лысенко, А. Г. Кощаев // Труды Кубанского государственного аграрного университета. – 2015. – № 52. – С. 212-218.

90. Петенко, А. И. Особенность формирования микробиоценозов ЖКТ и эффективность обменных процессов у перепелов при использовании пробиотических кормовых добавок / А. И. Петенко, Ю. А. Лысенко // Ветеринария Кубани. – 2012. – № 4. – С. 24-26.

91. Пивняк, И. Г. Каротинобактерин – новый пробиотик для молодняка птицы / И. Г. Пивняк [и др.] // Зоотехния. – 1998. – № 3. – С. 14-16.

92. Пищевая и перерабатывающая промышленность. Реферативный журнал. – 2016. – № 3. – С. 739.

93. Поляков, В. А., Патент РФ 2370526. Способ получения ферментолизата клеток дрожжей / В. А. Поляков, Л. В. Римарева, М. Б. Оверченко, Е. М. Серба, Е. И. Курбатова; Заявл. 20.10.2009. Оpubл. 11.09.2011. Бюл. № 14.

94. Полянская, И. С. Кисломолочные продукты: бифидобактерии, лактобациллы или пропионовокислые культуры / И. С. Полянская, А. А. Абабкова, Т. А. Берсенева, А. В. Берская, А. А. Зайцева // В сборнике: автотрофные микроорганизмы. – 2015. – С. 143.

95. Пышманцева, Н. Пробиотики повышают рентабельность птицеводства / Н. Пышманцева, Н. Ковехова, В. Савосько // Птицеводство. – 2011. – № 2. – С. 36-38.

96. Римарева, Л. В., Патент РФ 2104300. Способ получения белкового гидролизата дрожжевой биомассы / Л. В. Римарева, М. Б. Оверченко, В. В. Трифонова; Заявл. 25.01.1996. Оpubл. 10.02.1998. Бюл. № 3.

97. Римарева, Л. В., Аспекты создания консорциума микроорганизмов, обладающего особенностями пробиотика, для коррекции дисбиотических нарушений / Л. В. Римарева, Г. С. Волкова, Е. В. Куксова, А. Ю. Кривова // Хранение и переработка сельхозсырья. – 2017. – № 1. – С. 3944.

98. Рыжкова, Е. П. Кобальт и корриноиды в биологии *Propionibacterium freudenreichii*: Автореф. дис. док. биол. наук – М. : – 2003. – 266 с.

99. Рыжкова, Е. П. Классические пропионовокислые бактерии как пробиотики / Учебное пособие – М. : изд. Биологический факультет МГУ. – 2018. – 44с.

100. Рядчиков, В. Подсолнечная лузга белковая основа рациона / В. Рядчиков, М. Скакун, В. Мхитарян, Н. Павлов и др. // Птицеводство. – 2004. – №10. – 39с.

101. Сабетова, Л. А., Направления использования вторичных отходов свеклосахарного производства / Л. А. Сабетова, М. В. Девина // Технологии пищевой и перерабатывающей промышленности АПК – продукты здорового питания. – 2017. – № 5 (19). – С. 132-141.

102. Салеева, И. П. Новые пробиотические комплексы (препараты) и их применение при выращивании бройлеров / И. П. Салеева [и др.] // Птицеводство. – 2014. – № 12. – С. 29-33.

103. Сейдаметова, Э. А. Получение кобальтоустойчивых штаммов пропионовокислых бактерий – активных продуцентов витамина В₁₂ / Э. А. Сейдаметова, М. Р. Шакирзянова, Д. М. Рузиева, Т. Г. Гулямова. // Прикладная биохимия и микробиология. – 2004. – № 6. – С. 645-648.

104. Спогреева, М. А., Влияние концентрации дрожжевого экстракта в питательной среде на накопление альгината культурой *Azotobacter vinelandii* / М. А. Спогреева, Е. Г. Костина, Е. В. Кручинкина, Е. А. Котина // Сборник трудов биологического факультета МГУ им. Н.П. Огарева. Типография ООО «Мордовия – Экспо». – Саранск. – 2011. – с. 29-31

105. Старчина, Ю. А. Витамины группы В в лечении заболеваний нервной системы // Неврология, нейропсихиатрия, психоматика. – 2009. – № 2. – С. 84–87.

106. Согомоян, Т. К. Повышение эффективности применения вторичного сырья переработки плодоовощной продукции / Т. К. Согомоян, А. А. Левчук, А. В. Александрова, Н. Ю. Истошина // В сборнике: Параметры адаптивности многолетних культур в современных условиях развития садоводства и виноградарства. – 2013. – С. 333-342.

107. Соколенко, Г. Г. Пробиотики в рациональном кормлении животных. / Г. Г. Соколенко, Б. П. Лазарев, С. В. Миньченко // Технологии пищевой и перерабатывающей промышленности АПК-продукты здорового питания. – 2015. – № 1. – С. 72-78.

108. Степанова, А. М. Влияние пробиотика Норд-бакт на качество яичной продукции / А. М. Степанова [и др.] // Птицеводство. – 2013. – № 7. – С. 6-8.

109. Стоянова, Л. Г. Новые бактериоцины лактококков и их практическое использование: диссертация ... доктора биологических наук : 03.00.07 / Л.Г. Стоянова; МГУ.– М. : – 2008. – 368 с.: 31 ил.

110. Стрельчик, Н. В. Характеристика антиокислительной активности продуктов пробиотических микроорганизмов / Н. В. Стрельчик, С. С. Косенко // В сборнике: перспективы производства продуктов питания нового поколения. – 2017. – С. 435-437.

111. Суворов, А. Н. Теоретические аспекты клинического использования пробиотиков / А. Н. Суворов // Клиническое питание (научно-практический журнал). – 2007. – № 1-2 (243). – С. 168.

112. Тимощенко, Л. В. Основы микробиологии и биотехнологии. / Л. В. Тимощенко, М. В. Чубик, А. Н. Пестряков // – Томск: Томский политехнический университет. – 2011. – 194 с.

113. Тумурова, С. М. Разработка технологии бактериального концентрата пропионовокислых бактерий : дис. канд. техн. наук. / С. М. Тумурова. / Улан-Удэ. – 2004. – 115 с.

114. Тухбатов, И. А. Продуктивность цыплят-бройлеров на рационах с кормовой добавкой пробиотика и сорбента / И. А. Тухбатов // Био. – 2006. – № 6. – С. 27-28.

115. Фараджева, Е. Д. Производство хлебопекарных дрожжей. / Е. Д. Фараджева, Н. А. Болотов // Санкт-Петербург. – 2002. – 167 с.

116. Фисенко, Г. В. Пробиотики в комбикормах для кур–несушек и цыплят-бройлеров / Г. В. Фисенко, О. В. Кощаева, Ю. А. Лысенко // Молодой ученый. – 2015. – № 8. – С. 404-407.

117. Фисинин, В. И. Использование нетрадиционных кормов в рационе птицы / В. И. Фисинин, И. А. Егоров, Т. Н. Ленкова // Птица и птицепродукты. – 2016. – № 4 – С. 14-18.

118. Фисинин, В. И. Современные стратегии безопасного кормления птицы / В. И. Фисинин, А. Г. Тардатьян // Птица и птицепродукты. – 2003. – № 5. – С. 21-26.

119. Фурсова, Н. А. Биотехнологические аспекты получения микробной биомассы симбиотического свойства на разных видах углеводсодержащего сырья / Н. А. Фурсова, Г. С. Волкова, Е. В. Куксова, Е. И. Курбатова, В. Е. Постникова, А. В. Тесля. // М., – 2014. – С. 297-305.

120. Хамагаева, И. С. Биотехнология заквасок пропионовокислых бактерий: монография / И. С. Хамагаева, Л. М. Качанина, С. М. Тумурова. – Улан-Удэ : Изд-во ВСГТУ. – 2006. – 172 с.

121. Хамагаева, И. С. Исследование кислотного стресса у пропионовокислых бактерий / И. С. Хамагаева, Н. А. Цыремпилова, И. В. Бояринева, Л. Н. Дармажапова // Восточно-Сибирский государственный университет технологий и управления, статья в журнале. – Улан-Удэ, 2015.– № 6. – С. 5-8.

122. Хамагаева, И. С. Влияние Fe на метаболизм пропионовокислых бактерий / ISSN 2074 - 9414. Техника и технология пищевых производств. – 2012. – № 3

123. Хамагаева, И. С. Холестеринметаболизирующая активность пробиотических микроорганизмов / И. С. Хамагаева, А. Х. Цыбикова, Н. А. Замбалова // Молочная промышленность. – 2011. – №10. – с. 56

124. Хамагаева, И.С. Влияние условий культивирования на качество бактериального концентрата с холестеринметаболизирующими свойствами. / И. С. Хамагаева, А. Х. Цыбикова, Н. А. Замбалова, Сан Тиансонг // Вестник ВСГУТУ. – Улан-Удэ. – 2011. – № 3. – С. 85-88.

125. Хамагаева, И. С. Влияние сульфата железа на пропионовокислые бактерии / И. С. Хамагаева, А. В. Кривоносова // Молочная промышленность. – 2009. – № 6. – С. 71-72.

126. Черкасов, С. В. Технология новых кормовых продуктов на основе вторичных сырьевых ресурсов пищевых производств : автореф. дис. ... канд. техн. наук. – Краснодар. – 2006. – 130 с.

127. Пат. 2391859 Российская федерация, МПК А23К 1/14. А23К 1/16. Способ получения белково-витаминного корма / С. Н. Честнов ; заявитель и патентообладатель ООО «Биопротеин». – № 2007147178/13 ; заявл. 21.12.2007 ; опубл. 27.06.2009, Бюл. № 18. – 2 с.

128. Пат. 2528872 Российская федерация, МПК С12 N1/18. R1/85. Способ культивирования хлебопекарных дрожжей / О. Н. Чечина, К. А. Мартынов, О. В. Сокол, А. В. Зимичев // заявитель и патентообладатель ФГБОУ ВО Самарский государственный технический университет ; заявл. 10.09.2012 ; Опубл. 20.09.2014, Бюл. № 12. – 4 с.

129. Шатнюк, Л. Н. Пищевые микроингредиенты в создании продуктов здорового питания / Л. Н. Шатнюк // Пищевые ингредиенты. Сырье и добавки. – 2005. – № 2. – С. 18-22.

130. Шендеров, Б. А. Пробиотики, пребиотики и синбиотики. Общие и избранные разделы проблемы / Б. А. Шендеров // Пищевые ингредиенты. Сырье и добавки. – 2005. – № 2. – С. 23-26.

131. Шрамко, М. И. Реологические характеристики бактериальных концентратов / М. И. Шрамко, Д. В. Харитонов, О. В. Жигулина // Современные достижения биотехнологии. материалы Междунар. науч. конф. – Ставрополь : НОУ ОНТЦМП. – 2011. – № 2. – С. 204-205.

132. Шрамко, М. И. Биотехнология бактериальных концентратов с криоаморазиванием микробной массы для животноводства и молочной промышленности / М. И. Шрамко, Д. В. Харитонов // Актуальные проблемы техники и технологии переработки молока / Сб. науч. тр. – Барнаул СибНИИС. – 2011. – С. 191-195.

133. Шутова, В. В. Использование послеспиртовой барды для культивирования молочнокислых и пропионовокислых бактерий / В. В. Шутова, Т. И. Ивинкина, И. В. Фадеева, В. В. Ревин // Biotech. acta. – 2010. – № 6. – с. 12.

134. Anadyn, A. Probiotics for animal nutrition in the European Union. Regulation and Safety Assessment. Regulatory Toxicology / A. Anadyn, M. R. Martínez-Larranaga, M. Aranzazu-Martínez // Pharmacology. – 2006. – Vol. 45. – P. 91-95.
135. Andersson, H. Health effects of probiotics and prebiotics / H. Andersson, N. G. Asp, A. Bruce // Scand J Nutr. – 2001. – № 45. – P. 58-75.
136. Bengmark, S. Colonic food: pre- and probiotic Text. / S. Bengmark // Am J Gastroenterology. – 2000. – Suppl: 95 (1) – P. 5-7.
137. Bjedov, I. Stress – Induced mutagenesis in bacteria / I. Bjedov, O. Tenaillon, B. Gerard // Science. – Vol. 300. 5624. – P. 1404-1409.
138. Cox, C. M. Immunomodulatory role of probiotics in poultry and potential in ovo application / C. M. Cox, R. A. Dalloul // Benefic Microbes. – 2015. – Vol. 6. – P. 45-50.
139. Dicks Leon, M. T. Lactic acid bacteria: understanding the microorganism. The keys to successful use in maximizing anti-coliform and anti-salmonella activity / M. T. Dicks Leon. // Biotechnology in the feed industry. – Nicholasville, Kentucky. – 1993. – P. 151-153.
140. Draget, I. Chemical, physical and biological properties of alginates and their biomedical implications / I. Draget, C. Taylor // Food Hydroc. – 2011. – Vol. 25. – P. 251-256.
141. Gwiazdowska, D. Antimicrobial activity and stability of partially purified bacteriocins produced by *Propionibacterium freudenreichii ssp. freudenreichii* and *ssp. shermanii* / D. Gwiazdowska, K. Trojanowska // – Lait. – 2006. – № 86. – P.141-154.
142. Fuller, R. Probiotics in man and animals. A review / R. Fuller, J. Appl. // Bacteriol. – 1989. – Vol. 66. – № 5. – P. 365-378.
143. Fuller, R. Probiotics and prebiotics: microflora management for improved gut health / R. Fuller, G. R. Gibson. – Clin Microbiol Infect. – 1998. – P. 477-480.
144. Jan, G. Dairy propionibacteria as probiotics, in: Saarela M. (Ed.). / G. Jan, A. Lan, P. Leverrier // Functional dairy products. –Woodhead Publishing Ltd. – Cambridge UK. – 2007. – Vol. 2. – P. 165-194.

145. Jin, L. Z. Probiotics in poultry: modes of action / L. Z. Jin, Y. W. Ho, N. Abdullah, S. Jalaludin // *Worlds Poultry Sc. J.* – 1997. – V. 53, № 4. – P. 351-367.
146. Kajander, K. Effects of multispecies probiotic supplementation on intestinal microbiota in irritable bowel syndrome / K. Kajander, L. Krogius-Kurikka, T. Rinttila, H. Karjalainen, A. Palva, R. Korpela // *Aliment. Pharmacol. – Ther.* 26 – 2007 – P.463-473.
147. Krupey, K. S. Screening of pigment-synthesizing yeast-bioindicators ions of copper (ii) / K. S. Krupey, M. A. Misiruk, O. F. Rylsky // *Вісник Запорізького національного університету. Біологічні науки.* – 2015. – № 1. – P. 195-206.
148. Khan, M. Growth-promoting effects of singledose intragastrically administered probiotics in chickens. / M. Khan, D. Raoult, H. Richet, H. Lepidi, B. La Scola // *Br Poult Sci.* – 2007. – Vol. 48. – P.732-735.
149. Le Marechal, C. Surface proteins of *Propionibacterium freudenreichii* are involved in its anti-inflammatory properties / C. Le Maréchal, P. Vincent, C. V. Coline Ple, , J. Julien, et al // *Journal of Proteomics.* – 2015. – Vol. 113. – P.447-461.
150. Mitsuyama, K. Treatment of ulcerative colitis with milk whey culture with *Propionibacterium freudenreichii* / K. Mitsuyama, J. Masuda, H. Yamasaki, K. Kuwaki, S. Kitazaki, et al. // *J Intestinal Microbiol.* – 2007. – Vol. 21. – P.143-147.
151. Myllyluoma, E. Effects of anti-*Helicobacter pylori* treatment and probiotic supplementation on intestinal microbiota / E. Myllyluoma, T. Ahlroos, L. Veijola, H. Rautelin, S. Tynkkynen, R. Korpela, J. Int. // *Antim. Agents* 29. – 2007. – P.66-72.
152. Naumenko, O. V. Research of interaction between lactobacteria and phage / O. V. Naumenko // *Науковий вісник Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Гжицького.* – 2015. – Т. 17. – № 1–4 (61). – P. 68-72.
153. Nordmark, E.L. Structural studies of the exopolysaccharide produced by *Propionibacterium freudenreichii* ssp. *shermanii* JS / E. L. Nordmark, Z. Yang, E. Huttunen, G. Widmalm // *Biomacromolecules.* – 2005. – №6. – P.521-523.

154. Ouwehand, A.C. The probiotic potential of propionibacteria, in: Lactic acid bacteria: Microbiology and functional aspects, 3rd edition, revised and expanded / Ouwehand A.C., Salminen S., von Wright A., Ouwehand A. // Marcel Dekker Inc., New York, USA, 2004, pp. 159-174.

155. Piao, Y. Production of vitamin B12 in genetically engineered *Propionibacterium freudenreichii*. / Y. Piao, M. Yamashita, N. Kawarachi, R. Asegawa, H. Ono, Y. J. Murooka // Biosci Bioeng – 2004. – Vol. 98. – P. 167-173.

156. Piwowarek, K. *Propionibacterium spp.* - source of propionic acid, vitamin B12, and other metabolites important for the industry / K. Piwowarek, E. Lipińska, Hać-E. Szymańczuk et al. // Applied Microbiology and Biotechnology. – 2018. – Vol. 102. – pp 515-538.

157. Priest, F. G. Handbook of Brewing / F. G. Priest, G. G. Stewart / Second Edition edited. – 2006. – 844 p.

158. Roberfroid, M. B. Prebiotics and synbiotics: concepts and nutritional properties / M. B. Roberfroid // Br. J. Nutr. – 1998. – Vol. 80. – P. 197-202.

159. Simon, O. Probiotic feed additives – effectiveness and expected modes of action / O. Simon, A. Jadamus, W. Vahjen // Journal of Animal and Feed Sciences. – 2001. – Vol. 10. – P. 51-67.

160. Schumann, C. Prebiotics and Probiotics Text. / C. Schumann, G. Gibson // Leatherhead Publ, Leatherhead. 2000. - P. 47- 67.

161. Skjak-Braec, G. Application of alginate gels in technology and biomedicine / G. Skjak-Braec, T. Espevic // Carbohydr. Eur. – 1996. – V. 14. – P. 19-23.

162. Stackebrandt, E. Family Propionibacteriaceae: The genus *Propionibacterium*. In / E. Stackebrandt, C. S. Cummins, J. L. Johnson, M. Dworkin, S. Falkow, E. Rosemberg, K. H. Schleifer, E. Stackebrandt, (ed.) // – The Prokaryotes: A handbook on the Biology of Bacteria. Singapur: Springer. – 2006. – P. 400-418.

163. Thierry, A. New insights into physiology and metabolism of *Propionibacterium freudenreichii* / A. Thierry, S-M. Deutsch, H. Falentin, M. Dalmaso, F.J. Cousin, G. Jan // Int J Food Microbiol. – 2011. – V. 149. – P. 19-27.

164. Vanbelle, M. Probiotics in animal nutrition: a review / M. Vanbelle, E. Teller, M. Focant // Arch.-Tierernahr. – 1990. – Vol. 40, N 7. – P. 543-567.
165. Vorobjeva, L.I., Propionic acid bacteria as probiotics / L.I. Vorobjeva, E.Y. Khodjaev, N.V. Vorobjeva // Microb Ecol Health. – 2008. – V. 20. – P. 109-112.
166. Wang, L. M. Production of conjugated linoleic acid by *Propionibacterium freudenreichii* / L. M. Wang, J. P. Lv, Z. Q. Chu, Y. Y. Cui, X. H. Ren // Food Chemistry. – 2007. – Vol. 103, Issue 2. – P. 313-318.
167. Warminska-Radyko, I. Possibilities for stimulation of growth by propionibacteria / I. Warminska-Radyko, L. Laniewska-Moroz, A. Babuchowski // LAIT. 3rd International Symposium on Propionibacteria. P. – 2002. – Vol. 82. – №1. – P. 113-121.
168. Zarate, G. Some factors affecting the adherence of probiotic *Propionibacterium acidipropionici* CRL 1198 to intestinal epithelial cells / G. Zarate, V. Morata De Ambrosini, A. Perez Chaia, S. Gonzalez, J. Can // Microbiol. – 2002. – Vol. 48 – P. 449-457.
169. Zarate, G. Adhesion of dairy propionibacteria to intestinal epithelial tissue in vitro and in vivo / G. Zarate, V.I. Morata de Ambrosini, S. N. Gonzalez, A. Perez Chaia // J Food Prot. – 2002. – Vol. 65. – P. 534-539.
170. Zarate, G. Dairy propionibacteria prevent the proliferative effect of plant lectins on SW480 cells and protect the metabolic activity of the intestinal microbiota in vitro / G. Zarate, G. Saez, A. Perez Chaia // Anaerobe. – 2017. – Vol. 44. – P. 58-65.
171. Ziemer, C. J. An overview of probiotics, prebiotics and synbiotics in the functional food concept: perspectives and future strategies / C. J. Ziemer, G. R. Gibson // IntDairy J. – 1998. – Vol. 8. – P. 473-479.

ПРИЛОЖЕНИЯ

УТВЕРЖДАЮ
глава КФХ
Цыганок Лилия Эдуардовна
«13» августа 2020 г

АКТ

от «13» августа 2020 г

О результатах производственной проверки по теме:
«Биотехнология получения и применения функциональной биодобавки для
птицы на основе микробной конверсии растительного сырья».

Мы, нижеподписавшиеся, глава КФХ Цыганок Лилия Эдуардовна, технолог КФХ Тарасенко Ирина Геннадьевна, заведующий кафедрой биотехнологии, биохимии и биофизики ФГБОУ ВО «Кубанский государственный аграрный университет имени И.Т. Трубилина», доктор сельскохозяйственных наук, профессор Петенко Александр Иванович, аспирантка кафедры биотехнологии, биохимии и биофизики ФГБОУ ВО «Кубанский государственный аграрный университет имени И.Т. Трубилина» Волобуева Елена Сергеевна составили настоящий акт о том, что в КФХ Цыганок Л. Э. проведена производственная проверка эффективности использования функциональной биодобавки для птицы на основе микробной конверсии растительного сырья.

Содержание работы:

Место проведения работы: КФХ Цыганок Л. Э., г. Краснодар, х. Копанской, почтовое отделение № 85.

Время проведения работы: 29.06.2020 – 10.08.2020 г.

Испытуемых групп -2.

Количество птиц в испытуемых группах – 300 голов, отобранных по принципу аналогов.

В качестве апробируемой дозировки для опытной группы была определена схема, показавшая наиболее лучшие результаты в научно-хозяйственных опытах. Дозировки внесения в рацион перепелов составили 2,0 % в период 1–21 сутки, 2,5 % с 21 по 42 сутки и 3,0 % после 42 суток.

Основные зоотехнические показатели при выращивании перепелов приведены в таблице 1.

Таблица 1 – Зоотехнические показатели при выращивании перепелов, n = 300

Показатель	Группа	
	Контроль	Опыт
Количество голов в начале опыта, гол	300	300
Количество голов на 42-е сутки, гол	281	289
Сохранность, %	93,6	96,4
Динамика живой массы 1-42 сутки, г		
1-е сутки	9,81±0,10	9,77±0,12
7-е сутки	45,34±0,32	52,05±0,35
14-е сутки	112,65±2,15	119,27±2,47
21-е сутки	177,34±3,26	192,39±3,50
28-е сутки	248,70±5,32	263,45±5,83
35-е сутки	269,68±5,58	295,74±5,66
42-е сутки	301,85±5,72	324,21±5,91
Прирост живой массы перепелов 1-42 сутки		
Одной головы в среднем, г	292,04	314,44
Среднесуточный, г	6,95	7,48
Всего поголовья, кг	82,06	90,87
Масса потрошенной тушки на 42 сутки		
От 1-й головы, г	221,85±4,51	236,69±4,91
От всего поголовья, кг	62,33±4,99	68,40±4,54
Затраты комбикорма за период выращивания 1-42 сутки		
На 1 голову, г	950,00	926,82
На 1 кг прироста, г	3,25	2,86
На всё поголовье, кг	266,95	267,85

По результатам производственной апробации прироста живой массы опытной группы были выше контрольной на 7,67 %. Сохранность составила 93,6 % в контрольной группе и 96,4 % в опытной, то есть выше на 2,8 %. Помимо этого опытная группа затратила на 2,44 % корма меньше контрольной.

Помимо этого на 42-е сутки был произведен забор крови у 10 птиц каждой группы для анализа гематологических и биохимических показателей сыворотки крови. Результаты общего анализа сыворотки крови отражены в таблице 2.

Таблица 2 – Результаты общего и биохимического анализа крови птицы, n=10

Показатель	Группа	
	Контрольная	Опытная
Общий анализ крови		
Гемоглобин (Hb), г/л	128,16±1,60	130,01±1,08
Эритроциты (RBC), 10 ¹² /л	3,53±0,28	3,62±0,26
Лейкоциты (WBC), 10 ⁹ /л	17,96±1,19	16,42±0,70
Тромбоциты, 10 ¹⁰ /л	11,10±0,52	10,25±0,45
Биохимия крови		
АЛТ (Аланинаминотрансфераза), Ед/л	10,70±0,76	11,80±0,63
АСТ (Аспартатаминотрансфераза), Ед/л	268,40±7,34	282,05±7,56
Глюкоза, ммоль/л	9,32±0,65	8,39±0,51
Мочевая кислота, ммоль/л	286,54±6,12	274,23±6,20
Холестерин, ммоль/л	4,06±0,15	3,99±0,14
Фосфор, ммоль/л	2,15±0,10	1,99±0,11
Кальций, ммоль/л	2,12±0,17	2,26±0,16
Общий белок, г/л	32,56±0,45	34,96±0,12
Альбумины, г/л	13,84±0,36	14,38±0,69
Глобулины, г/л	17,64±0,42	17,19±0,49

По результатам гематологических и биохимических показателей сыворотки крови перепелов можно сделать вывод, что все исследуемые показатели крови у перепелов находились в границах физиологической нормы. Патологических и воспалительных процессов не выявлено. Данные результаты показывают эффективность использования разработанной функциональной биодобавки в птицеводстве. Показатели мочевины, АСТ во всех группах находились в пределах нормы, что показывает отсутствие глубоких патологий печени птицы в обеих группах.

Для анализа мясной продуктивности птицы в 42-х дневном возрасте было отобрано по 5 самцов и 5 самок из каждой группы и проведен убой.

Таблица 3 – Мясная продуктивность при применении функциональной биодобавки, n = 10

Показатель	Контроль	Опытная
Живая масса перед убоем, г	292,04±5,95	333,5±5,22
Масса тушки птицы после обескровливания, г	282,11±4,65	306,26±4,86
Масса непотрошенной тушки, г	257,00±5,05	288,03±4,92
Масса потрошенной тушки, г	190,99±3,98	231,11±3,84
Масса бедренных мышц, г	25,99±2,32	27,04±2,41
Мышцы голени, г	12,56±1,64	13,84±1,77
Грудные мышцы, г	60,16±2,41	67,29±2,68
Остальные мышцы, г	7,01±0,98	7,23±1,06
Всего съедобных мышц, г	106,30±2,92	119,17±2,99

Живая масса птицы опытной группы выше контрольной на 22,40 г или 7,12 %, масса потрошенных тушек на 24,15 г или 7,89 %. Мясные качества перепелов оценивали по объему съедобных частей тушки. Суммарный процент массы съедобных мышц перепелов опытной группы превышал контрольную на 12,87 г или 10,8 %.

Расчет экономической эффективности при применении функциональной биодобавки за период выращивания 1-42 сутки представлен в таблице 4.

Таблица 4 – Экономическая эффективность при применении биодобавки

Показатель	Группа	
	Контроль	Опыт
Количество голов в начале опыта, гол	300	300
Количество голов на 42-е сутки, гол	281	289
Сохранность, %	93,6	96,3
Среднесуточный прирост живой массы перепелов 1-42 сутки, г	6,95	7,48
Затраты комбикорма за период выращивания 1-42 сутки		
На 1 голову, г	950,00	926,82
На всё поголовье, кг	266,95	267,85
Затраты пробиотических биодобавок 1-42 сутки, кг	-	27,80
Экономическая эффективность 1-42 сутки		
Цена 1 кг комбикорма, руб	25,20	
Стоимость израсходованного корма, руб	6727,14	6749,82
Стоимость израсходованной биодобавки, руб	-	322,48
Стоимость израсходованного корма и биодобавки, руб	6727,14	7072,30
Цена реализации 1 кг мяса перепелов, руб	350,0	
Выручка от реализации мяса птицы, руб	28721,00	31804,50
Прибыль от реализации мяса птицы, руб	21993,86	24732,20
Экономический эффект от использования биодобавки, %	-	112,45

Экономическая эффективность при применении предлагаемой функциональной биодобавки показала снижение затрат корма на 1 кг прироста живой массы на 5,13 %. Кроме того, в опытной группе по сравнению с контрольной экономический эффект с использованием функциональной биодобавки увеличивается, прибыль составила 2738,34 руб, что выше контрольной группы на 12,45 %.

По завершению производственного испытания были получены следующие результаты:

1. Приросты живой массы опытной группы были выше контрольной на 7,67 %. Помимо этого опытная группа затратила на 2,44 % корма меньше контрольной.

2. Сохранность составила 93,6 % в контрольной группе и 96,4 % в опытной, то есть выше на 2,8 %.

3. Исследуемые показатели крови у перепелов находились в границах физиологической нормы. Патологических и воспалительных процессов не выявлено.

4. Живая масса птицы опытной группы выше контрольной на 22,40 г или 7,12 %, масса потрошенных тушек на 24,15 г или 7,89 %. Суммарный процент массы съедобных мышц перепелов опытной группы превышал контрольную на 12,87 г или 10,8 %.

5. Экономическая эффективность при применении предлагаемой функциональной биодобавки показала снижение затрат корма на 1 кг прироста живой массы на 5,13 %. В опытной группе по сравнению с контрольной экономический эффект с использованием функциональной биодобавки увеличивается, прибыль составила 2738,34 руб, что выше контрольной группы на 12,45 %.

Вывод: с целью повышения биологических показателей перепелов и экономической эффективности их выращивания рекомендуем в составе полнорационных комбикормов скармливать кормовую биодобавку,

нанесенную на вторичный субстрат, по следующей схеме: 2 % от массы корма в период с 1 до 21 сутки, 2,5 % с 22 по 41 сутки, 3 % с 42 суток и далее.

Подписи членов комиссии:

глава КФХ



Л. Э. Цыганок

Технолог КФХ

И. Г. Тарасенко

Заведующий кафедрой
биотехнологии, биохимии и биофизики

А. И. Петенко

Аспирантка кафедры
биотехнологии, биохимии и биофизики

Е. С. Волобуева

ФГБОУ ВО «Кубанский государственный аграрный
университет имени И.Т. Трубилина»

УТВЕРЖДАЮ
директор ООО МИП
«Экспериментальная биофабрика»



И.А. Петенко
2020 г.



СОГЛАСОВАНО
Проректор по научной работе
Кубанского ГАУ

А.Г. Коцаев
2020 г.

СТАНДАРТ ОРГАНИЗАЦИИ

СТО 9291-005-65842461-20

**БИОПРОДУКТ НА ОСНОВЕ МИКРОБНОЙ КОНВЕРСИИ
РАСТИТЕЛЬНОГО СЫРЬЯ**

Технические условия

Дата введения в действие
« 3 » февраля 2020 г.

РАЗРАБОТАНО:

Зав. кафедрой биотехнологии,
биохимии и биофизики КубГАУ,
д. с.-х. наук, профессор
А.И. Петенко

Аспирант кафедры биотехнологии,
биохимии и биофизики КубГАУ
Е.С. Волобуева

Краснодар
2020

ФГБОУ ВО «Кубанский государственный аграрный
университет имени И.Т. Трубилина»

УТВЕРЖДАЮ
директор ООО МИП
«Экспериментальная биофабрика»


И.А. Петенко
« 3 » февраль 2020 г.

СОГЛАСОВАНО
Проректор по научной работе
Кубанского ГАУ


А.Г. Коцаев
« 3 » февраль 2020 г.

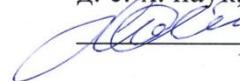
**ТЕХНОЛОГИЧЕСКАЯ ИНСТРУКЦИЯ
производства
БИОПРОДУКТА НА ОСНОВЕ МИКРОБНОЙ
КОНВЕРСИИ РАСТИТЕЛЬНОГО СЫРЬЯ**

ТР 9291-005-65842461-20

Дата введения в действие
« 3 » февраль 2020 г.

РАЗРАБОТАНО:

Зав. кафедрой биотехнологии,
биохимии и биофизики КубГАУ,
д. с.-ж. наук, профессор


А.И. Петенко

Аспирант кафедры биотехнологии,
биохимии и биофизики КубГАУ


Е.С. Волобуева

Краснодар
2020