

УДК 636.085.7: 036.94

В.В. КИРЕЕВА

МИКРОБНАЯ ТРАНСФОРМАЦИЯ ОТХОДОВ ВЕГЕТАТИВНОЙ МАССЫ РАСТЕНИЙ С ПОЛУЧЕНИЕМ КОРМОВ ДЛЯ ЖВАЧНЫХ

Изложены результаты разработки способа утилизации побочных продуктов фракционирования вегетативной массы бобовых трав биоконверсией, позволяющего получать корм для сельскохозяйственных животных, не уступающий по своим показателям традиционным.

Ключевые слова: вегетативная масса растений, пресс-остаток, микробная трансформация, смесь штаммов лактобактерий, силос, биологическая ценность.

Введение. Приготовление кормов из бобовых трав, которые обладают высокой питательностью с содержанием 16 % и более протеина, – один из реальных путей решения проблемы сокращения дефицита белка в рационах животных.

Традиционным кормом для жвачных является силос, приготовленный из одно- и многолетних трав. Основные силосные культуры – кукуруза и подсолнечник, в период уборки имеют высокую влажность, что является главной причиной больших потерь питательных веществ при хранении.

Бобовые многолетние травы, характеризующиеся самым высоким содержанием белка, являются трудносилосуемым сырьем из-за высокого содержания протеина и воды. Приготовление из них доброкачественного корма, не значительно уступающего по качеству исходной вегетативной массе, возможно только их силосованием после провяливания до 30–40 % сухих веществ с использованием химического консервирования. Но при провяливании неизбежны высокие полевые потери, а применяющиеся консерванты дороги и неудобны в хранении.

Снижение влажности зеленой массы может быть произведено механическим отжимом, после которого она разделяется на пресс-остаток и клеточный сок. В кормопроизводстве из клеточного сока получают протеиновые зеленые концентраты (ПЗК), используемые в рационах сельскохозяйственных животных.

При этом пресс-остаток обедняется по белку и другим питательным веществам, в результате чего не рассматривается как полноценный корм для животных, является побочным продуктом.

Однако пресс-остаток содержит 55–75 % протеина и других веществ от их количества в исходной листостебельной массе. Он обладает более низкой влажностью и содержанием белка по сравнению с исходной массой, что создает предпосылки для его эффективного силосования.

В связи с этим актуальной является разработка способов утилизации субпродуктов, образующихся при влажном фракционировании зеленой массы, обеспечивающих минимальные потери питательных веществ при получении и хранении приготавливаемых из них кормов.

Постановка задачи. Ресурсосберегающий способ утилизации побочных продуктов переработки вегетативных органов сельскохозяйственных растений основан на микробной трансформации пресс-остатка – введении препарата молочнокислых бактерий с получением доброкачественного корма.

В экспериментальных исследованиях использовалась вегетативная масса бобовых трав, выращиваемых в хозяйствах Ростовской области и в ботаническом саду Южного федерального университета: люцерны синегибридной, клевера белого, клевера красного, эспарцета обыкновенного, астрагала обыкновенного, донника белого, донника желтого, чины луговой, вики посевной, люпина белого.

Для снижения влажности материала вегетативную массу люцерны провяливали в полевых условиях и механически обезвоживали с получением пресс-остатка.

Утилизацию пресс-остатка проводили силосованием с консервантами, ферментацией (введением ассоциации культур молочнокислых бактерий). Для контроля на силос закладывали провяленную массу и пресс-остаток без введения консервантов и закваски.

При консервировании применяли химические агенты, как и в кормопроизводстве, – хлорид натрия, органические кислоты (уксусная, бензойная, муравьиная), их сочетания и смеси с формалином.

Для микробиологического заквашивания силосуемой массы использовали ассоциацию культур молочнокислых бактерий рода *Lactobacillus*: *L. acidophilus* ВКМ-317/402; *L. casei* ВКМ-321; *L. plantarum* 8 P A-3 (в равных пропорциях), приобретенную в Ростовском противочумном институте. Ассоциация штаммов является депонированной во Всероссийской коллекции микроорганизмов (Москва).

Определяли оптимальные режимы консервирования, ферментации фитомассы и пресс-остатка, химический состав, биохимические показатели и биологическую ценность получаемых кормов.

При этом выясняли отношение суммы незаменимых аминокислот к сумме заменимых (НАК/ЗАК). Потенциальную величину биологической ценности (BV) рассчитывали исходя из того, что продуктивное использование незаменимых аминокислот определяется уровнем первой лимитирующей. Для получения потенциальной величины биологической ценности необходимо знать различия аминокислотного сора [1]. Коэффициент эффективности белка PER, учитывающий содержание метионина, тирозина, лейцина, гистидина, рассчитывали по методу М.П. Черникова [2]. В расчетных показателях биологической ценности по Митчеллу–Блоку (BV_{M-B}) [3] учитывался максимальный дефицит первой лимитирующей аминокислоты в процентах; коэффициент использования белка (ϕ) по Бражникову–Рогову [4] – содержание первой лимитирующей аминокислоты и сумму незаменимых аминокислот в препарате и по шкале ФАО/ВОЗ [5].

Сравнительное изучение состава и свойств вегетативных органов бобовых трав и продуктов фракционирования их фитомассы проводили с целью выявления наиболее перспективных культур для комплексной переработки с получением кормовых продуктов для жвачных.

По содержанию протеина в листостебельной массе все исследованные культуры отвечали установленным нормам для силоса (не менее 14,5 %). Наиболее высокое содержание протеина в пресс-остатках наблюдалось у люцерны и клевера. Вследствие чего в соответствии с комплексным подходом к фракционированию биомассы предпочтение должно быть отдано данным культурам растений. В дальнейших экспериментах была использована вегетативная масса люцерны синегридной.

Чтобы получить доброкачественный силос из пресс-остатка, его отжимали в различных режимах до 66, 68 и 70 % влажности (СВ 34, 32 и 30 %), укладывали в емкости для силосования, закрывали полиэтиленовыми крышками и оставляли в подвале при постоянной температуре +14–15 °С. Срок хранения составлял 6 месяцев.

При уменьшении влажности пресс-остатка происходило снижение содержания сырого протеина по сравнению с исходной массой, так как часть белка уходила с клеточным соком. Наиболее высокий уровень протеина и других питательных веществ обнаружен в пресс-остатке, полученном при минимальной степени обезвоживания – до содержания сухих веществ около 30 %.

При механическом обезвоживании массы изменялось сахаропротеиновое отношение, так как при отжиме с клеточным соком удалялось больше белка, чем легкогидролизуемых углеводов, что вело к относительному повышению их содержания в массе, созданию благоприятных условий для развития молочнокислых бактерий и заквашивания корма.

В процессе хранения происходило снижение содержания питательных веществ в силосуемой массе всех серий опытов и накопление органических кислот.

Было установлено, что лучшими показателями качества обладали корма при минимальном снижении влажности пресс-остатка и вегетативной массы, проявленной также до минимальной степени обезвоживания, поэтому для исследований был выбран пресс-остаток с содержанием сухих веществ (СВ) около 30 % и вегетативная масса, проявленная до содержания СВ – 30 %.

В экспериментах с введением консервантов потери сухих веществ и протеина в процессе хранения в пресс-остатке были ниже по сравнению с необработанной массой. Наибольший консервирующий эффект оказывали муравьиная, бензойная кислоты и их сочетание. Потери питательных веществ при их применении были ниже в процессе заквашивания, содержание молочной кислоты – выше. Поэтому в дальнейших исследованиях использовались корма из проявленной массы и пресс-остатка, полученные при введении муравьиной кислоты.

Однако во всех вариантах консервирования пресс-остатка получался корм, по питательной и энергетической ценности, содержанию продуктов брожения превышающий полученный без консервантов, а также из проявленной массы, но все же удовлетворяющий требованиям ГОСТ к силосу не выше 2–3 класса.

В следующей серии опытов изучалась возможность приготовления силоса из биомассы анаэробной ферментацией – введением смеси штаммов молочнокислых бактерий рода *Lactobacillus*.

Согласно имеющимся сведениям [6], на основной и конечной (через 60 суток) стадиях брожения ведущую роль играют молочнокислые бактерии – *Lactobacillus plantarum*, *L. brevis*, *L. acidophilus*; на последней стадии силосования обнаруживаются также в довольно большом количестве слабоферментирующие штаммы *L. casei*. При выборе микроорганизмов для молочнокислой закваски мы руководствовались этими соображениями.

Закваска для силосования готовилась из маточного раствора и содержала 950–1000 млн клеток молочнокислых бактерий в 1 мл суспензии. Активная культуральная жидкость составляла 1 % от массы растительного сырья.

Исследование микрофлоры проводили в отделе эпидемиологии Ростовского противочумного института. Общее количество бактерий определяли высевом в чашках Петри на модифицированной среде для лактобактерий МРС-1 на основе гидролизата молока.

Определялось содержание в кормах молочнокислых бактерий и других видов микроорганизмов, накопление продуктов брожения, биохимические показатели.

В пробе силоса из проявленной массы люцерны через 6 месяцев хранения наблюдались признаки заплесневения, отмечалось наличие дрожжей и грибковой микрофлоры.

В пробах силоса из пресс-остатка с введением лактобактерий, *pH*-баланс был равен 4,3, количество лактобактерий составляло 10^3 мк/г, маслянокислые бактерии отсутствовали. Количество дрожжей и грибковой микрофлоры составляло 60–55 мк/г, гнилостные микроорганизмы не высевались.

Введенная бактериальная закваска совместно с эпифитной микрофлорой зеленой массы в анаэробных условиях эффективно заквашивала корм. В результате бурного развития лактобактерий в процессе ферментации часть углеводов жом сбраживалась с образованием и накоплением в среде органических кислот в оптимальных соотношениях. За счет этого *pH* среды снижался, и достигалась стабилизация питательных веществ продуктов.

Сохранность протеина и других питательных веществ в силосе, полученном из пресс-остатка с введением микробной закваски, выше, чем в опытах с проявленной массой, консервантами и без них. Потери протеина составляли 5,61–5,62 %, что было самым низким показателем во всех экспериментах, обеспечивающим лучшее качество продукта.

Во всех вариантах количество клеток лактобактерий было ниже величины, вводимой в массу при заквашивании.

Это объясняется тем, что в начальной стадии ферментации (от 8 до 15 суток) происходит активное размножение молочнокислых бактерий, накопление их в силосуемой массе и подавление конкурентной эпифитной микрофлоры [6].

После достижения максимального количества микроорганизмов в среде дальнейшая ферментативная активность снижается, и часть молочнокислых бактерий отмирает. Постепенное уменьшение общего числа бактерий начинается после 15 суток силосования и охватывает примерно 60 суток. Количество микроорганизмов за это время снижается примерно до миллиона. Быстрое размножение бактерий до высокого пика, за которым следует резкое уменьшение количества жизнеспособных клеток, считается показателем хорошего процесса брожения.

В наших экспериментах отсутствие лактобактерий в контрольном образце не противоречит имеющимся в литературе данным [6, 7]. О микробиологических изменениях, происходящих при длительном хранении силоса (4 и более месяцев), мало сведений. К тому же не приводится разграничений между ростом бактерий и их выживанием в этот период. Отмечена также нерегулярность развития в силосе молочнокислых бактерий: в одних образцах они доминировали, в других полностью отсутствовали независимо от того, был ли силос хорошего или плохого качества.

Полученные препараты подвергались аминокислотному анализу, на основании которого рассчитывались величины показателей биологической ценности белков корма.

Содержание аминокислот варьировалось в зависимости от способа консервирования. При традиционных способах кормопроизводства в результате проявляния и консервации неизбежны процессы деструкции части термолабильных аминокислот, окисления и химической модификации серосодержащих, серина, треонина, разрушения части лизина и аргинина.

Силос из законсервированного пресс-остатка по показателям биологической ценности уступал корму из проявленной массы, что было связано с разрушением части незаменимых аминокислот при прессовании и последующем хранении жома (табл.1).

Таблица 1

Расчетные показатели биологической ценности кормов из пресс-остатка и проявленной листостебельной массы люцерны после химической обработки

Продукт	Показатель				
	НАК/ЗАК	BV	PER	BV _{М-Б}	φ
Силос из законсервированной проявленной массы	0,78 ±0,20	31,55 ±0,30	7,13 ±0,27	76,87 ±0,28	0,39 ±0,15
Силос из законсервированного пресс-остатка	0,88 ±0,31	30,35 ±0,42	6,28 ±0,12	78,95 ±0,32	0,36 ±0,21

Влияние негативных факторов снижается при использовании микробной трансформации биомассы. Полученный данным способом корм из пресс-остатка по комплексу показателей биологической ценности не уступал продуктам, полученным традиционными способами.

Отношение суммы незаменимых аминокислот к сумме заменимых (НАК/ЗАК) в силосе из пресс-остатка было на уровне корма из проявленной массы и составляло 1,1.

По величине показателя биологической ценности по Митчеллу–Блоку (BV_{М-Б}), коэффициенту использования белка φ, данный препарат не уступал, а по показателю биологической ценности BV и коэффициенту эффективности белка PER превышал корм из проявленной массы (табл.2).

Таблица 2

Показатели биологической ценности кормов из пресс-остатка и проявленной массы после биоконверсии

Продукт	Показатель				
	НАК/ЗАК	BV	PER	BV _{М-Б}	φ
Силос из проявленной массы с введением лактобактерий	1,11 ±0,14	35,29 ±0,43	5,81 ±0,17	76,64 ±0,55	0,40 ±0,11
Силос из пресс-остатка с введением лактобактерий	1,09 ±0,11	46,69 ±0,53	6,82 ±0,17	76,64 ±0,43	0,40 ±0,12

Известно, что при анаэробной ферментации процессы окисления ненасыщенных жирных кислот и фенолов менее выражены, чем при использовании других консервирующих агентов [8, 9]. Это оказывает положительное влияние на качество и вкусовые свойства получаемого продукта. По имеющимся данным [10], в процессе ферментации биомассы растений инактивируются такие нежелательные компоненты, как ингибитор трипсина, сапонины, продукты распада хлорофилла.

Полученный корм имел коричневатно-зеленый цвет, приятный запах квашеных овощей, сохраняя свою структуру. По органолептическим показателям, химическому составу, энергетической ценности и содержанию органических кислот корм из пресс-остатка, полученный при анаэробной ферментации, отвечал требованиям ГОСТ к силосу 2-го класса [11].

Эксперименты по скормливаю силоса из пресс-остатка люцерны, полученного микробной трансформацией, проводились на лактирующих коровах красной степной породы в возрасте 3 лет. При определении среднесуточного надоя животных установлено, что в группе, получавшей корм с введением силоса из пресс-остатка люцерны, он был практически на уровне надоя животных, получавших рацион с традиционно приготовленным кукурузным силосом, и составлял 9,76–9,77 л.

На основании полученных результатов составлена технологическая схема получения кормов из побочных продуктов влажного фракционирования вегетативной массы сеяных трав с биоконверсией пресс-остатка.

Вегетативная масса из приемного устройства (питателя) с помощью транспортера зеленой массы поступает в измельчитель, затем в пресс для отжима, в результате которого разделяется на остаток и зеленый сок. Полученный сок из пресса через фильтрующее устройство поступает в резервуар для сбора, после чего используется для приготовления протеинового зеленого концентрата (ПЗК).

Образующийся в виде побочного продукта остаток из пресса по транспортеру подается на силосование с введением культур микроорганизмов.

Приготовление молочнокислой закваски производится из маточного раствора ассоциации культур молочнокислых бактерий рода *Lactobacillus*: *L. acidophilus* ВКМ-317/402; *L. casei* ВКМ-321; *L. plantarum* 8 P A-3.

Культуры микроорганизмов засеваются на приготовленный субстрат, после чего инкубируются в термостате при 40 °С в течение 6 часов. Полученный засевной материал бактерий поступает в резервуар для молочнокислой закваски.

Остаток из пресса по транспортеру подается в смеситель. Культуры бактерий из резервуара для молочнокислой закваски дозирующим устройством вносятся в пресс-остаток в количестве 1 % по его массе.

Смесь пресс-остатка и молочнокислых бактерий подается в траншею для приготовления силоса. Траншея с заквашиваемой массой закрывается полиэтиленовой пленкой и оставляется на хранение.

Выводы. Разработанный способ утилизации пресс-остатка, образующегося в виде побочного продукта при переработке вегетативной массы бобовых сеяных трав, основанный на биотрансформации – введении смеси штаммов культур молочнокислых бактерий, обеспечивает получение доброкачественного корма для жвачных, снижение потерь продуктов растениеводства, сокращение времени, средств и сохранение питательных веществ по сравнению с традиционно применяемыми методами.

Библиографический список

1. Alsmeyer R.H., Cunningham A.E., Happich N.Z. Equations Product PER from amino acid Analysis // Food Technology. – 1974. – № 28. – P. 34–70.
2. Черников М.П. Потенциальная величина биологической ценности белков кормовых культур / М.П. Черников // Доклады ВАСХНИЛ. – 1986. – № 8. – С. 27–29.
3. Mitchell H.H., Block K.J. Some relationships the amino acid contents of protein and their values for the rdt // J. Biol. Chem. – 1976. – № 163. – P. 599–620.
4. Бражников А.М. К вопросу об оценке качества пищевых продуктов / А.М. Бражников // Изв. вузов. Пищевая технология. – 1971. – № 1. – С. 153–155.
5. FAO/ WHO ad hoc expert committee, Energy and protein Requirements. – WHO Technical Report Series. Rome, Italy. – 1973. – № 522. – P. 22–71.
6. Квасников Е.И. Молочнокислые бактерии и пути их использования / Е.И. Квасников, О.А. Нестеренко. – М.: Наука. – 1975. – 389 с.
7. Победнов Ю.А. Вторичная ферментация и аэробная порча силоса: причины возникновения и способы устранения / Ю.А. Победнов // Кормопроизводство. – 2005. – № 11. – С. 24–29.
8. Беккер М.Е. Биотехнология / М.Е. Беккер. – М., 1982. – 268 с.
9. Кузнецов Д.М. Акустическая эмиссия при фазовых превращениях в водной среде / Д.М. Кузнецов, А.Н. Смирнов, А.В. Сыроешкин // Рос. хим. журн. – 2008. – Т. LII. – № 1. – С. 114–121.
10. Коганов М.М. Комплексный подход к влажному фракционированию зеленых растений с получением кормового и пищевого белка, лекарств и биостимуляторов / М.М. Коганов // Mechanizacija u agrokompleksu. Zbornik zadova sa simposijuma. – Obrenovac. – 1990. – P. 193–200.
11. ГОСТ 23638–1991. Силос. Технические условия.

References

1. Alsmeyer R.H., Cunningham A.E., Happich N.Z. Equations Product PER from amino acid Analysis // Food Technology. – 1974. – № 28. – P. 34–70.
2. Chernikov M.P. Potencial'naya velichina biologicheskoi cennosti belkov kormovykh kul'tur / M.P. Chernikov // Doklady VASHNIL. – 1986. – № 8. – S. 27–29. – in Russian.
3. Mitchell H.H., Block K.J. Some relationships the amino acid contents of protein and their values for the rdt // J. Biol. Chem. – 1976. – № 163. – P. 599–620.
4. Brajnikov A.M. K voprosu ob ocenke kachestva pischevykh produktov / A.M. Brajnikov // Izv. vuzov. Pischevaya tehnologiya. – 1971. – № 1. – S. 153–155. – in Russian.
5. FAO/ WHO ad hoc expert committee, Energy and protein Requirements. – WHO Technical Report Series. Rome, Italy. – 1973. – № 522. – P. 22–71.
6. Kvasnikov E.I. Molochnokislye bakterii i puti ih ispol'zovaniya / E.I. Kvasnikov, O.A. Nesterenko. – M.: Nauka. – 1975. – 389 s. – in Russian.
7. Pobednov Yu.A. Vtorichnaya fermentatsiya i aerobnaya porcha silosa: prichiny vozniknoveniya i sposoby ustraneniya / Yu.A. Pobednov // Kormoproizvodstvo. – 2005. – № 11. – S. 24–29. – in Russian.
8. Bekker M.E. Biotehnologiya / M.E. Bekker. – M., 1982. – 268 s. – in Russian.
9. Kuznecov D.M. Akusticheskaya emissiya pri fazovykh prevrascheniyah v vodnoi srede / D.M. Kuznecov, A.N. Smirnov, A.V. Syroeshkin // Ros. him. jurn. – 2008. – T. LII. – № 1. – S.114–121. – in Russian.
10. Koganov M.M. Kompleksnyi podhod k vlajnomu frakcionirovaniyu zelenykh rastenii s polucheniem kormovogo i pischevogo belka, lekarstv i biostimulyatorov / M.M. Koganov // Mehanizatsiya u agrocumpleksu. Zbornik zadova sa simposiuma. – Obrenovac. – 1990. – R. 193–200.
11. GOST 23638–1991. Silos. Tehnicheskie usloviya. – in Russian.

Материал поступил в редакцию 24.05.10.

V.V. KIREYEVA

MICROBIAL TRANSFORMATION OF VEGETATIVE PLANT MASS RESIDUES WITH OBTAINING FEEDSTUFF FOR RUMINANTS

The results of the developed method of utilizing by-products of vegetative leguminous grass mass fractionating by bioconversion are presented. It makes possible to obtain feedstuff of equal worth to the traditional one for agricultural animals.

Key words: vegetative plant mass, press-remainder, microbial transformation, mixture of lactobacillus strains, silage, biological value.

КИРЕЕВА Валерия Васильевна, профессор (2005) кафедры «Производственная безопасность» Донского государственного технического университета, доктор биологических наук (2005), доцент (2002). Окончила биологический факультет РГУ (1974).

Область научных интересов: комплексная переработка вегетативной массы растений с получением пищевых и кормовых белковых добавок.

Имеет 1 патент на изобретение.

Автор 91 публикации, из них 3 монографии.

gaponov@bgd.rgashm.ru

Valeria V. KIREYEVA, Professor (2005) of the Industrial Safety Department, Don State Technical University. Ph.D. in Biology (2005), Associate Professor (2002). She graduated from the Biological Faculty, Rostov State University (1974).

Research interests: complex processing of vegetative mass of plants with obtaining food and feed protein supplements.

Author of 91 scientific publications, 1 patent of the RF and 3 monographs.

gaponov@bgd.rgashm.ru