

УДК 579.64

**ПОДБОР МИНЕРАЛЬНОЙ МАТРИЦЫ ДЛЯ
КОНСТРУИРОВАНИЯ КОРМОВОЙ ДОБАВКИ,
ОБОГАЩЕННОЙ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИМ
КОНСОРЦИУМОМ С ПРОБИОТИЧЕСКИМ ДЕЙСТВИЕМ**

Феоктистова Н.А., кандидат биологических наук, доцент,
тел. 8(8422) 55-95-47, feokna@yandex.ru

Дежаткина С.В., доктор биологических наук, профессор,
тел. 8(8422) 55-95-31, dsw1710@yandex.ru

Чекалин А.М., аспирант
тел. 8(8422) 55-95-75, chekalin.artim@yandex.ru

Чекалина Е.А., студент
тел. 8(8422) 55-95-85, kattyа.is.crying@mail.ru

ФГБОУ ВО Ульяновский ГАУ

***Ключевые слова:** минеральная матрица, кормовая добавка, микробиологический консорциум, *Heundrickxia coagulans**

*Работа посвящена подбору минеральной матрицы для конструирования кормовой добавки, обогащенной микробиологическим консорциумом с пробиотическим действием. Проведенные исследования свидетельствуют о том, что кремнийсодержащие минералы Инзенского (диатомит) и Юшанского (цеолит) месторождений Ульяновской области потенциально могут быть минеральной матрицей для консорциума из 8 штаммов бактерии *Heundrickxia coagulans* (ранее *Bacillus coagulans*), которые прошли отбор в качестве кандидатных по уровню экспрессии генов активных метаболитов, кодирующих выработку молочной кислоты, синтез бактериоцинов и биодеструктивных веществ в отношении целлюлозы.*

Исследования проводятся в соответствии с тематическим планом научно-исследовательских работ, выполняемых по заданию МСХ РФ в 2024 году.

Введение. Анализируя литературные источники, установлено, что в настоящее время кормовые пробиотические добавки широко применяются в животноводстве и птицеводстве. Введение их в рацион питания позволяет усовершенствовать существующие системы разведения и кормления сельскохозяйственных животных, становятся важным компонентом современного рационального кормления животных [1, 2]. Установлено, что применение пробиотиков может оказывать противоинфекционное, иммуномодуляторное воздействие на организм, повышать барьерные функции (физиологические механизмы, защищающие организм от воздействия окружающей среды, препятствующие проникновению в него бактерий, вирусов и вредных веществ), стимулировать моторику и экскреторную функции кишечника [3, 4].

В настоящее время на российском рынке в широком ассортименте представлены кормовые добавки, содержащие в своем составе бактериальные штаммы с пробиотическим эффектом [5, 6]. Известны данные о положительном эффекте введения в рацион кремнийсодержащих минералов [7, 8].

Цель исследований - подбор минеральной матрицы для конструирования кормовой добавки, обогащенной микробиологическим консорциумом с пробиотическим действием.

Материалы и методы. Предварительные исследования позволили произвести отбор бактериальных штаммов, на основании изучения уровня экспрессии генов активных метаболитов, кодирующих выработку молочной кислоты, синтез бактериоцинов и биодеструктивных веществ в отношении целлюлозы – это консорциум из 8 штаммов бактерии *Heyndrickxia coagulans* (ранее *Bacillus coagulans*).

В качестве минеральной матрицы было решено использовать кремнийсодержащие минералы Инзенского (диатомит) и Юшанского (цеолит) месторождений Ульяновской области. Выбор обоснован отсутствием высоких транспортных расходов при дальнейшей реализации проекта. Известно, что вышеназванные кремнийсодержащие минералы имеют не только различное происхождение, но и обладают различными свойствами.

Диатомит (кремнезем) – продукт отложения органических останков диатомовых водорослей, характеризующийся высоким содержанием кремния, имеющий пористую структуру (Инзенское месторождение Ульяновской области. Химический состав: SiO_2 - 81,08 %, TiO_2 - 0,32 %, Al_2O_3 - 5,63 %, Fe_2O_3 2,67 %, FeO - 0,01 %, MnO_2 - 0,01 %, CaO - 0,68 %, MgO - 0,87 %, Na_2O - 0,19 %, K_2O - 1,14 %, P_2O_5 - 0,08 %, SO_3 - 0,05 %. В работе был использован тонкодисперсный порошок фракции 0-100 мкр.

Цеолит входит в группу гидратированных алюмосиликатов, образующихся из вулканических пепловых осадков. Характеризуется пористой структурой, высокой ионообменностью, каталитическими и адсорбционными способностями (Юшанское месторождение Ульяновской области). Химический состав: SiO_2 (общий) - 56,6 % (в том числе аморфный - 26,7 %, CaO - 13,3 %, K_2O - 1,25 %; MgO - 1,73 %, P_2O_5 - 0,49 %, SO_3 - 0,5 %).

В экспериментах нами были использованы природный диатомит и модифицированный (обогащенный) цеолит (полученный путем термообработки порошка цеолита при температуре 450-650°C в течение 1,0-1,5 часов (гранулированная фракция размером частиц 0,3-1,0 мм) в чистом виде и улучшенный, который был обогащен комплексом («ВитаАмин») из следующих аминокислот (%): аспаргиновой кислоты (3,31+0,11), глутаминовой кислоты (2,88+0,43), серина (0,70+0,11), гистидина (0,52+0,08), глицина (0,95+0,14), треонина (0,60+0,09), аргинина (0,89+0,13), тирозина (1,15+0,17), цистина (0,32+0,05), валина (1,82+0,27), метионина (0,42+0,06), фенилаланина (1,76+0,26), изолейцина (3,18+0,48), лейцина (4,46+0,67), лизина (7,41+1,11) и пролина (3,10+0,46). Производитель аминокислотного комплекса - ООО «Семирамида» (ТУ 20.14.42-001-27361838-2019, сертификат соответствия РОСС RU.НВ56.Н01245).

Результаты исследований и их обсуждение. Первоначально нами была изучена возможность культивирования 8 штаммов кандидатных бактерий *Heyndrickxia coagulans*, входящих в состав биоконпозиции, на выбранных минеральных матрицах. Каждый бактериальный штамм, входящий в консорциум, был выращен на мясо-пептонном бульоне при 37 °C в течение 24 часов.

Протокол постановки эксперимента: в 3 ряда по 17 стерильных пробирок вносили: 1 ряд - по 1 грамму модифицированного цеолита; 2 ряд – по 1 грамму природного диатомита; 3 ряд – по 1 грамму модифицированного цеолита, обогащенного аминокислотным комплексом. Затем, в пробирки из каждого ряда вносилась 0,1 мл «суточной культуры» кандидатного штамма бактерий. Таким образом мы определяли выживаемость бактерий на минеральной матрице при культивировании бактерий в течение 24 часов при $t = +37^{\circ}\text{C}$. Параллельно с обогащением мы определяли титр бактериальной культуры методом серийных разведений с высевом на мясо-пептонный агар (определено, что он составил $n \times 10^7$ КОЕ/мл). Экспериментально было установлено, что титр кандидатных бактерии при $t = +37^{\circ}\text{C}$ в течение 24 часов составил $n \times 10^7$ КОЕ/мл.

Вывод: кандидатные бактерии способны выживать на минеральных матрицах в течение 24 часов при $t = +37^{\circ}\text{C}$.

Далее эксперименты усложнили и определяли способность кандидатных бактерий выживать при в различных условиях: при $t = +4^{\circ}\text{C}$ – в течение 1-9 дней; при среднесуточной $t = +22 (\pm 2)^{\circ}\text{C}$ – в течение 1-9 дней; при среднесуточной $t = +15 (\pm 5)^{\circ}\text{C}$ – в течение 1-9 дней. После культивирования в указанных условиях проводили исследования по определению титра бактерий методом серийных разведений с высевом на мясо-пептонный агар. Экспериментально было установлено, что титр кандидатных бактерии при указанных параметрах составил $n \times 10^7$ КОЕ/мл.

Проведены были эксперименты по обогащению мультипробиотической композицией из бактериальных штаммов *Heyndrickxia coagulans*, которые были выращены в монокультуре при температуре $+37^{\circ}\text{C}$ в течение 24 часов на питательной среде, включающей пептон - 10 г/л, глюкозу - 20 г/л, NaCl - 1 г/л, CaCl₂ - 0,05 г/л, MgSO₄ - 0,25 г/л, MnSO₄ - 0,3 г/л, FeSO₄ - 0,01 г/л, кукурузный экстракт - 30 г/л. pH среды $7,5 \pm 0,1$ доводили 20 % раствором NaOH. (Был определен титр композиции – $n \times 10^8$ КОЕ/мл). Протокол эксперимента: навеска из 1000 граммов минералсодержащего сырья обогащалась при равномерном помешивании 100 мл бактериальной композиции (использовали лабораторную мешалку). Далее образец ставили в термостат на 24 часа при $t = +37^{\circ}\text{C}$. Затем проверяли

выживаемость бикомпозиции в различных условиях: при $t = +4\text{ }^{\circ}\text{C}$ – в течение 120 дней; при среднесуточной $t = +22 (\pm 2)\text{ }^{\circ}\text{C}$ – в течение 120 дней; при среднесуточной $t = +15 (\pm 5)\text{ }^{\circ}\text{C}$ – в течение 30 дней. Полученные данные были сведены в таблице 1.

Таблица 1 – Изучение выживаемости бикомпозиции на минеральной матрице

Название минеральной матрицы	Количество колиниеобразующих единиц, выросших на чашке Петри, при титровании 1 грамма минеральной матрицы, обогащенной бактериальной композицией											
	$t = +4\text{ }^{\circ}\text{C}$				$t = +22 (\pm 2)\text{ }^{\circ}\text{C}$				$t = +15 (\pm 5)\text{ }^{\circ}\text{C}$			
	30 дней	60 дней	90 дней	120 дней	30 дней	60 дней	90 дней	120 дней	10 дней	20 дней	30 дней	
Модифицированный цеолит	10^7	10^6	10^6	10^6	10^8	10^7	10^7	10^7	10^7	10^7	10^6	10^6
Модифицированный улучшенный цеолит	10^7	10^6	10^6	10^6	10^8	10^7	10^7	10^7	10^7	10^7	10^6	10^6
Природный диатомит	10^6	10^5	10^5	10^5	10^7	10^6	10^6	10^6	10^6	10^6	10^5	10^5

Полученные результаты свидетельствуют о том, что использование в качестве минеральной матрицы природного диатомита не целесообразно, так как по сравнению с модифицированным цеолитом титр бактерий в поликультуре, выросших при различных температурах культивирования ($t = +4\text{ }^{\circ}\text{C}$, $t = +15 (\pm 5)\text{ }^{\circ}\text{C}$, $+22 (\pm 2)\text{ }^{\circ}\text{C}$,) в течение 30-120 дней был ниже в среднем на один порядок. Результаты по цеолиту были сходными, что позволило в качестве минеральной матрицы выбрать цеолит модифицированный, который гораздо дешевле, чем модифицированный улучшенный. Иначе, высокая цена на минеральную матрицу – как составляющую кормовой добавки - не позволит в перспективе при ценообразовании разрабатываемого продукта заложить больший процент на прибыль.

Известны работы ученых, посвященные описанию положительного эффекта при введении в рацион продуктивных животных и птицы цеолита и диатомита, в том числе и месторождений Ульяновской области [9, 10]. Есть данные об использовании *Bacillus coagulans* в качестве пробиотической добавки для птицы [1, 7].

Заключение. Проведенные исследования свидетельствуют о том, что кремнийсодержащие минералы Инзенского (диатомит) и Юшанского (цеолит) месторождений Ульяновской области

потенциально могут быть минеральной матрицей для консорциума из 8 штаммов бактерии *Heuendrickxia coagulans* (ранее *Bacillus coagulans*), которые прошли отбор в качестве кандидатных по уровню экспрессии генов активных метаболитов, кодирующих выработку молочной кислоты, синтез бактериоцинов и биодеструктивных веществ в отношении целлюлозы.

Библиографический список:

1. Сверчкова, Н.В. Пробиотические препараты на основе бактерий рода *Bacillus* для животноводства, птицеводства и промышленного рыбоводства /Н.В. Сверчкова// Микробные биотехнологии: фундаментальные и прикладные аспекты. - 2020. – Т. 12. – С. 252-264.
2. Явников, Н.В. Применение пробиотических препаратов и кормовых добавок в современном птицеводстве /Н.В. Явников, А.Л. Москвина// Актуальные вопросы сельскохозяйственной биологии. – 2021. – №. 3 (21). – С. 30.
3. Мартынова, Е.Г. Влияние пробиотической кормовой добавки «Амилоцин» на продуктивность кур-несушек кросса Хайсекс Браун /Е.Г. Мартынова, П.П. Корниенко// Актуальные вопросы сельскохозяйственной биологии. – 2020. – Т. 1. – №. 15. – С. 60.
4. Степанова, В.В. «Друзья кишечника»: аспекты применения пробиотиков в промышленном свиноводстве /В.В. Степанова// Эффективное животноводство. – 2020. – №. 8 (165). – С. 22-27.
5. Расчет экономической эффективности при добавлении в рацион птиц биологически активных добавок /И.Н. Кислицын, Т.В. Изекеева, С.Ю. Смоленцев// Актуальные вопросы современной науки. – 2020. – №. 1. – С. 18-24.
6. Ветеринарно-санитарная оценка мяса цыплят-бройлеров при использовании в рационе кормовых пробиотиков /Л.Ф. Якупова, Э.К. Папуниди, С.Ю. Смоленцев// Вестник Марийского государственного университета. Серия «Сельскохозяйственные науки. Экономические науки». – 2022. – Т. 8. – №. 4 (32). – С. 434-441.
7. Стрельцов, В.А. Влияние пробиотической кормовой добавки на продуктивность цыплят-бройлеров / В.А. Стрельцов, А.П. Фищук//

Вестник Брянской государственной сельскохозяйственной академии. – 2021. – №. 4 (86). – С. 52-59.

8. Характеристика жирнокислотного состава молока коров при включении в их рацион активированных и обогащенных кремнийсодержащих добавок / В.В. Ахметова, С.В. Дежаткина, Н.А. Феоктистова и др. // Аграрная наука. – 2023. - № 1. – С. 39-43.

9. Эффективность производства молока путём введения в рацион коров шарловского диатомита / Ш.Р. Зялалов, С.В. Дежаткина, В.А. Исайчев// Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. – 2022. – №. 2 (58). – С. 191-196.

10. Показатели рубцового пищеварения, продуктивности и качества молока коров на фоне применения в их рационах сорбционно-пробиотической добавки Биопиннулар / О.А. Десятов, Л.А. Пыхтина, В.А. Исайчев// Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. – 2022. – №. 3 (59). – С. 225-230.

SELECTION OF A MINERAL MATRIX FOR THE DESIGN OF A FEED ADDITIVE ENRICHED BY A MICROBIOLOGICAL CONSORTIUM WITH PROBIOTIC ACTION

Feoktistova N.A., Dezhatkina S.V., Chekalin A.M., Chekalina E.A.

Keywords: *mineral matrix, feed additive, microbiological consortium, Heyndrickxia coagulans*

The work is devoted to the selection of a mineral matrix for the design of a feed additive enriched with a microbiological consortium with probiotic action. The conducted studies indicate that the silicon-containing minerals of the Inzensky (diatomite) and Yushansky (zeolite) deposits of the Ulyanovsk region can potentially be a mineral matrix for a consortium of 8 strains of the bacterium Heyndrickxia coagulans (formerly Bacillus coagulans), which were selected as candidates for the level of gene expression of active metabolites encoding lactic acid production, bacteriocin synthesis and biodestructive substances in relation to cellulose.