

Высокоэффективные закваски российского производства

Г. Лаптев, Е. Ылдырым, И. Маркман, Л. Ильина, Д. Тюрина, Н. Новикова, В. Филиппова, А. Дубровин

В кормопроизводстве, как и во многих других отраслях сельского хозяйства нашей страны, сегодняшний основной тренд — это импортозамещение. Научно-производственная компания «БИОТРОФ» имеет опыт создания уникальных силосных заквасок именно под нужды отечественных заказчиков, который начал формироваться еще задолго до тех времен, когда это понятие стало настолько актуальным для России.

Существенным шагом в укреплении фундамента таких разработок стало создание на базе НПК «БИОТРОФ» единственного в России Центра молекулярно-генетических исследований микробиоты пищеварительной системы сельскохозяйственных животных и кормов.

На сегодняшний день НПК «БИОТРОФ» предоставляет рынку абсолютно полноценную платформу импортозамещения биопрепаратов для сельского хозяйства. Весь ассортимент зарегистрирован и рекомендован к применению на территории Российской Федерации, продукция оптимальна для предприятий, производящих органическую продукцию, и не содержит ГМО.

За что мы платим?

Нередко специалисты и руководители сельскохозяйственных предприятий настороженно относятся к отечественным продуктам, и проблема кроется в основном в психологическом восприятии. Предвзятость многих российских потребителей часто заставляет перевозить качество импортных биопрепаратов, что распространяется и на силосные закваски.

Стоимость таких препаратов значительно отличается от отечественных. Однако по умолчанию потребители выбирают именно те, что дороже. Если бы отечественные закваски не стоили дешевле, чем импортные, это было бы обманом потребителя. Разберемся, из чего складывается стоимость зарубежного препарата.

В себестоимость такой закваски заложены расходы на дорогостоящие процедуры сертификации, транспортировку, на излишние простои контейнеров на таможне, включены таможенные штрафы за нарушения, оплата работы агентов по сертификации продукции, юристов, логистов, огромные деньги выделяются на продвижение товаров.

На сегодняшний день серьезные санкционные баталии мировых держав и стремительный рост курса иностранной валюты привели к резкому обострению этой проблемы. А ведь за все это «отдуваться» приходится конечным потребителям этих самых товаров.

В то же время качество дорогостоящих зарубежных силосных заквасок нередко оставляет желать лучшего по совершенно объективным причинам.

Важен не титр, а активность

Зарубежные производители заквасок умалчивают о том, что лиофильная сушка связана с низкой выживаемостью бесспорных лактобактерий и потерей их активности. Поэтому в случае молочно-кислых бактерий этот метод рекомендуется только для консервации штаммов, подлежащих длительному хранению в биоресурсных центрах и коллекциях культур.

Лиофильное высушивание — это технологически сложный процесс, который включает три агрессивных по отношению к бактериям, не образующим спор, этапа: замораживание клеток; первичную сушку, в течение которой замороженная вода удаляется при субнулевых температурах; вторичную сушку, при которой из сухого препарата при положительных температурах удаляется незамороженная вода. На каждом этапе процесса происходят серьезные повреждения бактериальных клеток, которые связаны с действием низких температур, обезвоживанием, осмотическим стрессом, изменением pH растворов (Грачева, Осин, 2016).

Процесс сушки лактобактерий вызывает повреждение клеточной стенки и клеточных компонентов, особенно цитоплазматической мембраны, белков, ДНК, происходит окисление липидов, что приводит к потере выживаемости и активности (рис. 1).

Поскольку проницаемость клетки связана с клеточной мембраной, ее повреждения при лиофильной сушке приводят к «просачиванию», а значит, повышенной чувствительности к соли в среде (Teixeira et al., 1996). А ведь в силосе в результате подвяливания растительной массы создается высокое осмотическое давление. Поэтому эффективное использование бактерий в качестве силосных заквасок напрямую зависит от толерантности к такому. Следовательно, выжить в силосе высушенные лактобактерии с поврежденными мембранами уже не смогут, он окажется слишком агрессивной для них средой.

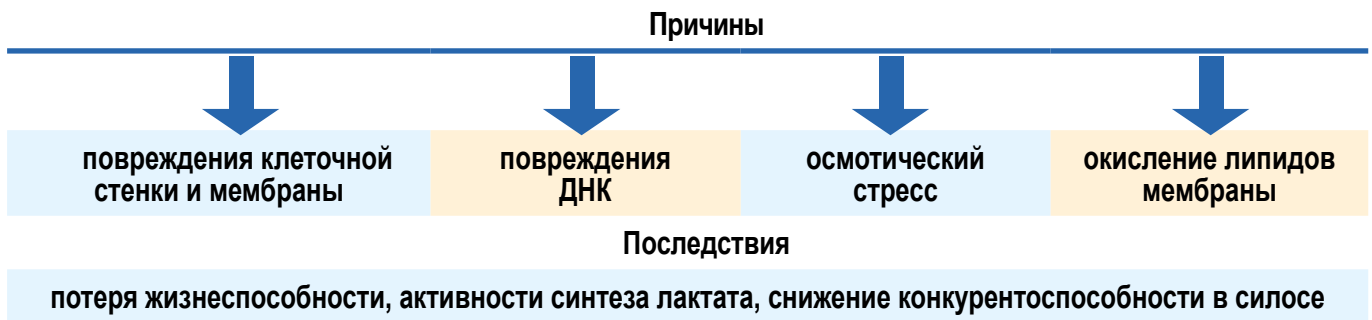


Рис. 1. Причины потери жизнеспособности и ферментативной активности высушенных лактобактерий (Kandil, Soda, 2015)

Бактерии относятся к прокариотам, или доядерным — надцарству организмов, не обладающих (в отличие от эукариот) клеточным ядром, в результате чего генетический аппарат прокариот не защищён ядерной оболочкой. Лиофильное высушивание бактерий, не образующих споры, приводит к повреждению их ДНК, а значит, повреждаются гены, которые контролируют работу всех ферментов. Именно поэтому при высушивании происходит значительное снижение синтеза и активности ферментов (Kandil, El Soda, 2015) и, следовательно, способности к производству кислот и других важных веществ, жизненно необходимых при ферментации кормов.

Ученые (Bozoglu, Gurakan, 1989) посчитали долю выживших после лиофильного высушивания бактерий *Lactobacillus acidophilus*, а также долю возникших «нелетальных повреждений клеток», связанных с дефектами ДНК, мембран, липидов. Оказалось, что даже при использовании специальных стабилизаторов количество выживших бактерий не превышало 16,7%. А ведь стоимость этих стабилизаторов немаленькая и тоже бьет по карману потребителя. Более того, доля поврежденных бактерий среди небольшого количества выживших составляла от 42,2 до 45%!

До сих пор ни зарубежным, ни отечественным ученым не удалось решить проблему выживаемости и стабилизации свойств лактобактерий, «перенесших» лиофильное высушивание. Самыми «нежными» культурами, плохо переносящими высушивание, оказались палочкообразные лактобактерии (Teixeira et al., 1996).

Эти препятствия перед созданием качественных препаратов вынуждают производителей повышать количество таких «полумертвых» бактерий в составе высушенных препаратов на основе лактобактерий, что и породило миф о якобы необходимых высочайших титрах заквасок. Более того, с помощью этих уловок производители пытаются выгодным образом позиционировать свой товар, что некорректно по отношению к покупателю.

Можно ли высушивать бактерии?

Тем не менее высушивание позволяет получить бактериальный препарат в форме, удобной для доставки потребителю. Доставка такого «скоропортящегося» продукта, как бактерии, в отдаленные и

труднодоступные регионы нашей необъятной страны, безусловно, затруднена. Поэтому одним из наиболее целесообразных решений в данной ситуации является использование высушенных заквасок на основе **спорообразующих** микроорганизмов.

Как уже было сказано, лактобактерии не обладают способностью к образованию спор. В то же время спорообразующие бациллы, например вид *Bacillus subtilis*, имеют в своем цикле развития покоящиеся структуры (споры) для длительного выживания в неблагоприятных условиях (рис. 2).

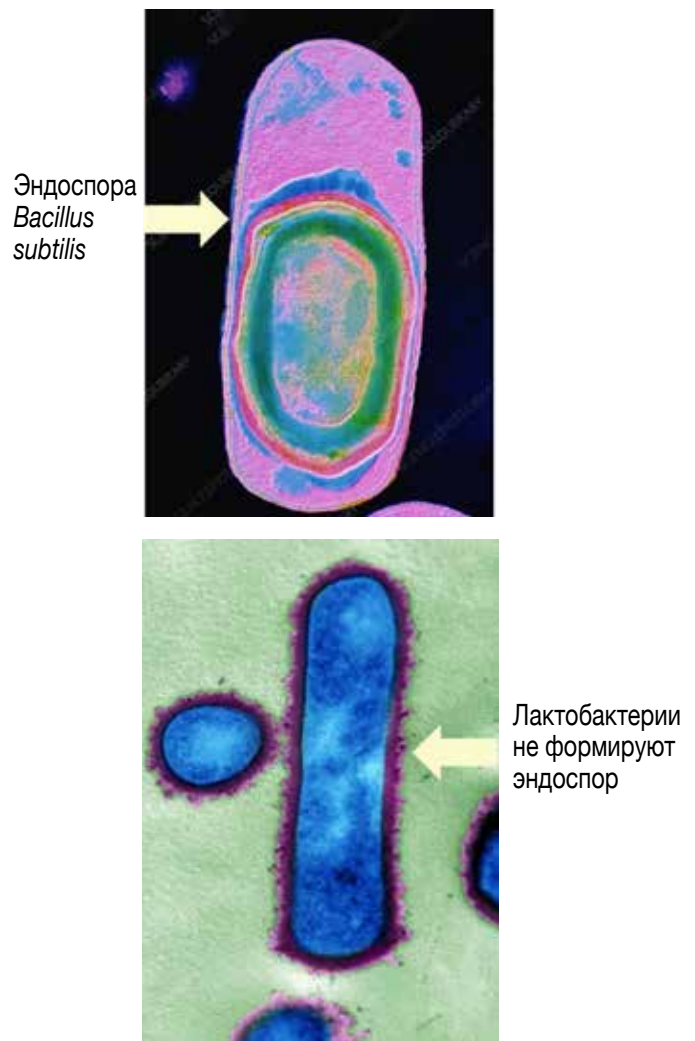


Рис. 2. Микрофотография *B. subtilis* и *Lactobacillus* sp. (сканирующее электронное микроскопирование)

Споровые формы микроорганизмов характеризуются высоким уровнем термостабильности. Они делают клетку абсолютно защищенной от повреждений и позволяют микроорганизмам с успехом переносить высушивание. До наступления благоприятствующих прорастанию условий споры находятся в состоянии покоя на протяжении длительного периода времени.

Есть два типа бактериальных спор: экзоспоры (формируются снаружи бактериальной клетки) и эндоспоры (внутри клетки). Экзоспоры не так устойчивы, как эндоспоры. Способность к образованию эндоспор есть только у некоторых бактерий филума *Firmicutes*, в частности у бактерий рода *Bacillus*. Бактериальные эндоспоры невероятно выносливы. Ученые могут с легкостью культивировать жизнеспособные споры бацилл, возраст которых насчитывает несколько десятков тысяч лет.

Очевидно, что при лиофильном высушивании у *B. subtilis* сохраняется высокий уровень не только выживаемости, но и активности.

Зачем переплачивать?

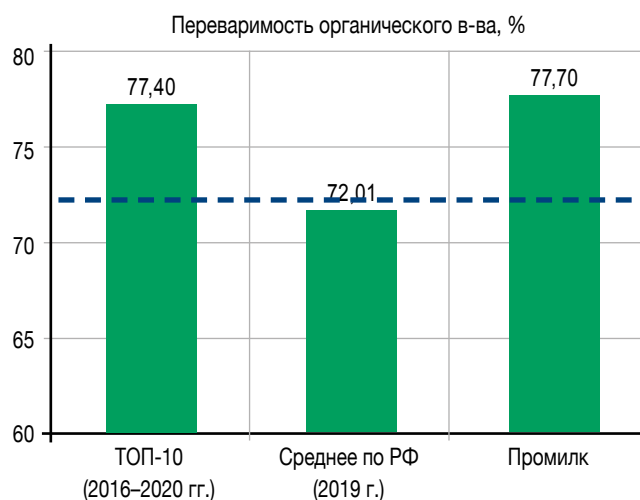
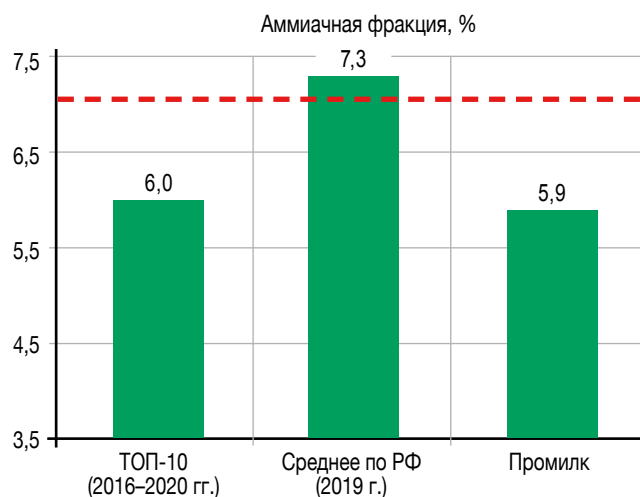
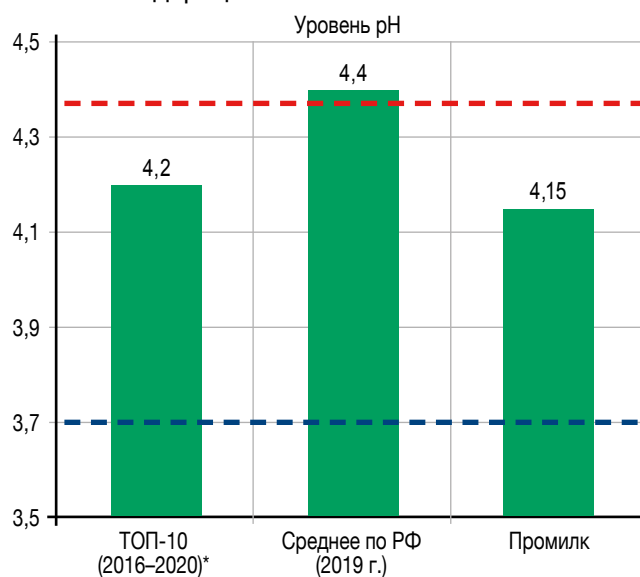
В компании «БИОТРОФ» разработан высокоэффективный сухой консервант для силосования Промилк, который представляет собой размноженную и лиофильно высушенную чистую культуру полезных спорообразующих бактерий *Bacillus*.

Бактерии препарата (в отличие от лактобактерий) прекрасно переносят высушивание за счет способности к образованию эндоспор. Промилк используется для консервирования трудносилосуемых культур (бобово-злаковых смесей, козлятника восточного, клевера, люцерны и др.), а также кукурузы. Он обеспечивает эффективное подавление гнилостной микрофлоры, плесневых грибов и дрожжей за счет синтеза антимикробных пептидов, что подтверждено при проведении полногеномного секвенирования.

Известная европейская компания «Еврофинс Агро Тестинг» (BLGG) проводит широкие мониторинговые исследования биохимических показателей качества силосов из российских товарно-молочных ферм по методикам, признанным во всем мире. Эти результаты ежегодно публикуются на сайте BLGG и в интернет-журнале The Dairy News.

С целью дать объективную оценку эффективности действия силосной закваски Промилк мы провели сравнение биохимических показателей качества кормов, заложенных с данной закваской в ряде животноводческих хозяйств различных регионов нашей страны, со средними результатами анализа качества силосов за 2016–2020 гг., а также с результатами всероссийского конкурса «Лучший силос/сенаж» («ТОП-10») в рамках выставки «АгроФарм-2019». Победителями конкурса «Лучший силос/сенаж» стали предприятия, сумевшие заготовить силос наилучшего качества. Результаты анализов были автоматически классифицированы на основе балльной системы, принятой в конкурсе, с учетом основных биохимических показателей качества.

Биохимические показатели качества силосов, заготовленных с закваской Промилк (рис. 3), представляют собой усредненные данные лаборатории BLGG, которые предоставили нам специалисты животноводческих хозяйств различных регионов Российской Федерации.



— верхняя граница нормы — нижняя граница нормы

* победители конкурсов «Лучший силос/сенаж» в рамках выставки «АгроФарм» 2016–2020 гг.

Рис. 3. Биохимические показатели качества силосов

Уровень pH силоса — это один из важнейших показателей для оценки эффективности консерванта, так как бактерии, входящие в его состав, должны в кратчайшие сроки подкислить заготавливаемую массу. Это позволяет подавить нежелательную микрофлору и направить процесс брожения в правильное русло. Применение биоинтерванта Промилк обеспечивает быстрое подкисление корма уже на первые сутки силосования и позволяет эффективно сохранить питательную ценность.

Анализ аммиачной фракции (NH_3 -фракции) дает представление о процессах ферментации в силосе. Аммиак — это продукт распада протеина, который выделяется при расщеплении белка в результате деятельности гнилостных микроорганизмов. Чем ниже содержание аммиачной фракции, тем эффективней происходят процессы ферментации в кормах. Как видно из рис. 3, содержание NH_3 -фракции в пробах силосов, заготовленных с закваской Промилк, было даже ниже, чем в образцах десяти лучших силосов Российской Федерации, что свидетельствует о быстром подкислении корма, подавлении гнилостных бактерий и высокой сохранности питательных веществ при внесении закваски.

Питательная ценность корма «заключена» в органическом веществе. Силос с биоинтервантом Промилк имел наилучшую переваримость органического вещества, что позволяет животным, потребляющим корм с закваской, извлечь наибольшее количество доступных для производства молока протеина и энергии.

При этом стоимость препарата Промилк в три раза ниже зарубежных сухих заквасок даже при сравнении с их «досанкционной» стоимостью!

Без потерь до финала

Еще одним инновационным продуктом компании «БИОТРОФ» является закваска для силосования Биотроф-АС, которая представляет собой консорциум живых молочнокислых бактерий, усиливающих действие друг друга. Закваска в несколько раз увеличивает срок аэробной стабильности, поскольку обладает мощным антимикробным действием против инициаторов аэробной порчи, к которым относятся дрожжи *Saccharomyces* sp., *Debaryomyces* sp., *Hanseniaspora* sp., *Candida* sp., а также плесневые грибы *Aspergillus* sp., *Penicillium* sp., *Fusarium* sp. и др.

Кроме того, использование закваски Биотроф-АС позволяет затормозить развитие маслянокислых и гнилостных микроорганизмов благодаря усиленному синтезу молочной кислоты и антимикробных пептидов.

Был проведен широкий мониторинг биохимических показателей качества кормов, законсервированных с закваской Биотроф-АС. Было заложено более 11 тыс. тонн кормов, в т.ч. высокой влажности и из трудносилосуемых культур.

Судя по данным, представленным на рис. 4, применение биоинтерванта Биотроф-АС обеспечило высокую сохранность питательных веществ в те-

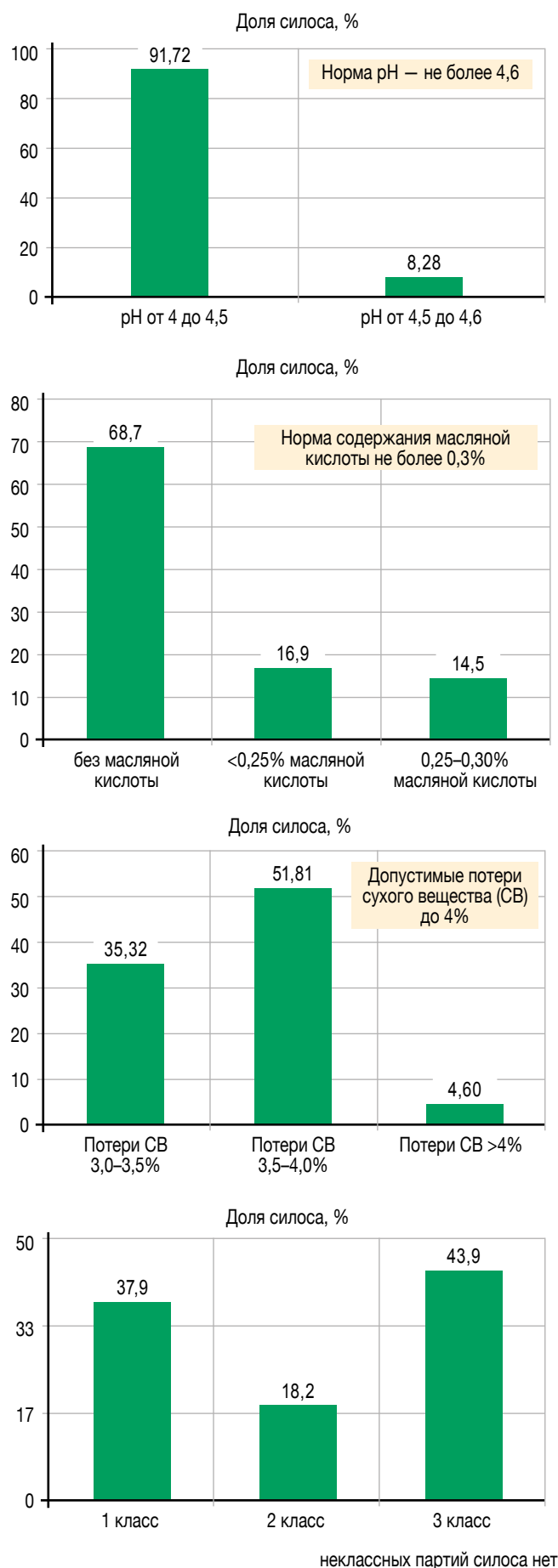


Рис. 4. Эффективность закваски Биотроф-АС при консервировании силоса (более 11 тыс. тонн кормов, в т.ч. высокой влажности и из трудносилосуемых культур)

ние всего периода хранения за счет быстрого снижения уровня pH, правильного процесса брожения массы и подавления роста нежелательной микрофлоры. 68,7% силоса было полностью свободно от масляной кислоты, которая является индикатором порчи силоса (это связано с тем, что она продуцируется бактериями рода *Clostridium*, которые несут ответственность за основные процессы распада белка). Важно, что по своему качеству ни одна из партий силоса не была отнесена к неклассному корму.

Титр бактерий и отработанные режимы дозирования биопрепарата Биотроф-АС полностью оптимизированы под особенности ферментации растительного сырья. Следует помнить, что итогом внесения избытка молочнокислых бактерий, особенно при консервировании высокоуглеводного сырья, может явиться переокисленный силос.

Безопасное плющенное зерно

Микробиологические процессы, протекающие при хранении влажного плющеного зерна, отличаются от таковых при силосовании зеленых кормов. В силосной траншее в результате быстрого уплотнения растительной массы анаэробные условия могут возникать уже через несколько часов после закладки. При хранении влажного зерна анаэробные условия создаются только через 2–3 суток.

Поэтому при консервировании влажного сырья возникают благоприятные условия для роста аэробной гнилостной микрофлоры, прежде всего дрожжей и токсинообразующих грибков. Эффективно сдерживать развитие аэробных микроорганизмов позволяет применение консерванта для плющеного зерна Ацидисил с выраженной антифунгальной активностью.

Препарат создан на основе естественных бактериальных метаболитов (включая сильнейшие бактериоцины) с дополнительным включением в состав четырех короткоцепочечных органических кислот. Бактериальные метаболиты обладают мощным антибактериальным и антифунгальным действием. Короткоцепочечные органические кислоты дополняют их действие, обеспечивая подкисление, что стимулирует размножение молочнокислых бактерий и сводит к минимуму развитие нежелательной микрофлоры, включая дрожжи и грибки.

В двух животноводческих хозяйствах Кировской области под условными номерами «1» и «2» были проведены производственные испытания по консервированию плющеного зерна с использованием консерванта Ацидисил.

Было показано, что применение консерванта обеспечивало получение не только качественного, но и безопасного корма. В таблице представлены результаты определения содержания микотоксинов методом ИФА в корме через 3 месяца хранения. Для сравнения приведены статистические данные по среднему содержанию микотоксинов в пробах консервированного плющеного зерна из животноводческих хозяйств европейской части РФ.

Как видно из данных таблицы, содержание афлатоксинов, охратоксина А, Т-2 токсина и ДОН в корме из хозяйства № 1 было ниже предела достоверного определения методом ИФА.

В корме из хозяйства № 2 афлатоксины и охратоксин А также не были выявлены, а содержание Т-2 токсина было в 10,5 раз меньше, чем в среднем по России.

Содержание микотоксинов в консервированном зерне, мкг/кг

Микотоксины	Ацидисил		Консервированное зерно без добавок**
	Хозяйство № 1	Хозяйство № 2	
Афлатоксины	н.п.д.о.*	н.п.д.о.	2,8
Охратоксин А	н.п.д.о.	н.п.д.о.	3,0
Т-2 токсин	н.п.д.о.	25,0	263,0
ДОН	н.п.д.о.	1540	1700

* — ниже предела достоверного определения методом ИФА;

** — среднее содержание микотоксинов в пробах консервированного плющеного зерна из животноводческих хозяйств европейской части РФ.

Таким образом, подталкивание потребителя к погоне за высокими титрами силосных заквасок — это еще один рекламный ход, способствующий активной торговле западных производителей.

Попытки создания заквасок на основе высушенных лактобактерий игнорируют факт, что при высушивании биомассы микроорганизмов, которые не образуют эндоспор, происходит либо гибель чувствительных к температуре бактерий, либо серьезные повреждения клеток, в десятки раз снижающие активность.

На сегодняшний день НПК «БИОТРОФ» предоставляет рынку абсолютно полноценную платформу импортозамещения всех видов заквасок для силосования, включая препараты для консервирования трудносилосуемых культур, повышения аэробной стабильности и консервирования плющеного зерна.

Для хозяйств из отдаленных регионов нашей страны создана закваска Промилк, представляющая собой лиофильно высушенную культуру спорообразующих бактерий рода *Bacillus*.

Возможность формировать эндоспоры в цикле развития гарантирует потенциал бактерий к выживанию и высокому уровню метаболической активности в силосе.

Стоимость заквасок НПК «БИОТРОФ» в три раза ниже зарубежных препаратов даже при сравнении с их «досанкционной» стоимостью.