

УДК 573.6.086.83.001.26; 636.087.7  
AGRIS L02

<https://doi.org/10.33619/2414-2948/46/24>

## ОПТИМИЗАЦИЯ ПРОЦЕССА ПОЛУЧЕНИЯ НОВОГО БИОКОНСЕРВАНТА ДЛЯ СИЛОСОВАНИЯ МНОГОЛЕТНИХ ТРАВ

©*Васильева Е. А.*, ORCID: 0000-0001-9108-8885, SPIN-код: 5859-2999, канд. биол. наук,  
Всероссийский научно-исследовательский институт мелиорированных земель,  
п. Эммаусс, Россия, 2016vniimz-noo@list.ru

©*Рабинович Г. Ю.*, ORCID: 0000-0002-5060-6241, SPIN-код: 1437-3617, д-р биол. наук,  
Всероссийский научно-исследовательский институт мелиорированных земель,  
п. Эммаусс, Россия

## THE OBTAINING PROCESS OPTIMIZATION A NEW BIOLOGICAL PRESERVATIVE FOR ENSILING OF PERENNIAL GRASSES

©*Vasilyeva E.*, ORCID: 0000-0001-9108-8885, SPIN-code: 5859-2999, Ph.D.  
All-Russian Research Institute of Reclaimed Lands,  
Emmaus, Russia, 2016vniimz-noo@list.ru

©*Rabinovich G.*, ORCID: 0000-0002-5060-6241, SPIN-code: 1437-3617, Dr. habil.,  
All-Russian Research Institute of Reclaimed Lands, Emmaus, Russia

*Аннотация.* В Всероссийском научно-исследовательском институте мелиорированных земель разработан и запатентован способ получения биоконсерванта для силосования многолетних трав, в основе которого лежит каскадный технологический процесс ферментации и экстракции исходного сырья (торфа и птичьего помета). В результате получается жидкий биопрепарат с высоким содержанием полезной молочнокислой микрофлоры, питательных и биологически активных веществ. Одно из преимуществ разработанного процесса – возможность модификации и влияния на конечный результат. Целью исследований, изложенных в данной статье, было сравнение двух способов получения биоконсерванта (базового и нового) и оценка целесообразности применения нового многокомпонентного стимулятора. Базовый способ включает внесение в качестве стимулятора отходы мукомольного производства, а в качестве экстрагента – использование раствора калия фосфорнокислого. Новый способ отличается тем, что в качестве биостимулятора использовалась многокомпонентная добавка, включающая отходы мукомольного производства, золу листовенных пород деревьев, аскорбиновую кислоту и калий фосфорнокислый. В качестве экстрагента использовали раствор уксусной кислоты. При реализации процессов определяли величину рН, общую микробную обсемененность, активность ферментов целлюлозоразрушающего блока. Многокомпонентный стимулятор обеспечивал повышенные значения рН в течение всего периода ферментации (в среднем на 22% относительно базового способа), что указывало на активизацию микробного сообщества (до  $10^9$ ) и активную трансформацию исходного сырья. Он активно работал уже на первых этапах ферментации (инвертазно-целлюлазное отношение по новой технологии составило 1,4 против 0,8 по базовой технологии). РН биоконсервантов изменялась в зависимости от экстрагента: щелочного (6,5) или кислотного (4,9). Активная реакция среды экстрагента оказывала влияние на общую микробную обсемененность. В варианте с базовым щелочным экстрагентом наблюдался бурный рост микрофлоры ( $10^{11}$ ). Кислотный экстрагент ингибировал развитие многих видов микроорганизмов ( $10^{10}$ ), однако именно он и

способен отдать приоритет молочнокислым микроорганизмам, для которых кислотность среды не лимитирующий фактор.

*Abstract.* All-Russian Research Institute of Reclaimed Lands has developed and patented a method for producing a biological preservative for ensiling perennial grasses, which is based on a cascade process for the fermentation and extraction of raw materials (peat and bird droppings). The result is a liquid biological product with a high content of beneficial lactic microflora, nutrients and biologically active substances. One of the advantages of the developed process is the possibility of modification and influence on the final result. The goal of the research outlined in this article was to compare two ways to obtain a bio-preservative (basic and new) and to evaluate the feasibility of using a new multicomponent stimulator. The basic method includes the introduction of bakery production waste as a stimulant, and the use of a solution of potassium phosphate as the extractant. The new method is characterized in that a multi-component additive was used as a biological stimulant, including bakery production waste, hardwood ash, ascorbic acid and potassium phosphate. Acetic acid solution was used as an extractant. During the implementation of the processes, the pH value, the total microbial contamination, the activity of the enzymes of the cellulase and invertase. A multicomponent stimulator provided elevated pH values during the entire fermentation period (on average by 22% relative to the base method), which indicated the activation of the microbial community (up to  $\times 10^9$ ) and active transformation of the feedstock. He was already active in the early stages of fermentation (the invertase-cellulase ratio by the new technology was 1.4 versus 0.8 by the base technology). The pH of biological preservatives changed depending on the extractant: alkaline (6.5) or acidic (4.9). The active reaction of the extractant medium affected the total microbial contamination. In the variant with basic alkaline extractant, there was a rapid growth of microflora ( $\times 10^{11}$ ). Acidic extractant inhibited the development of many types of microorganisms ( $\times 10^{10}$ ), but it is he who is able to give priority to lactic acid microorganisms, for which the acidity of the medium is not a limiting factor.

*Ключевые слова:* ферментация, биоконсервант, ферменты, микрофлора, экстрагент, инвертаза, целлюлаза, стимулятор, силосование.

*Keywords:* fermentation, biological preservative, enzymes, microflora, extractant, invertase, cellulase, stimulator, ensiling.

Для успешного поступательного развития животноводство, как одна из основных отраслей сельскохозяйственного производства, нуждается в высокотехнологичном и научно обоснованном кормопроизводстве. Ценным ресурсом для животноводства гумидной зоны Российской Федерации являются многолетние кормовые травы, особенно бобовые. Поэтому приготовление высокопитательных и качественных кормов из многолетних бобовых трав было и остается актуальной проблемой кормопроизводства [1]. В гумидной зоне РФ из-за нестабильных погодных условий бывает очень сложно заготовить качественные объемистые корма. В настоящее время, чтобы избежать ненужных проблем, снизить зависимость от погодных условий, при силосовании и сенажировании используют различные биоконсерванты, позволяющие повысить качество кормов и снизить потери ими питательных веществ. При этом силос, заготовленный путем биоконсервации и обогащенный молочнокислой микрофлорой, оказывает положительное пробиотическое влияние на пищеварение животных и обеспечивает их запланированную продуктивность.

Отделом биотехнологий ФГБНУ ВНИИМЗ длительное время разрабатываются и патентуются способы получения различных биопрепаратов для растениеводства и животноводства. Одним из них является способ получения биоконсерванта, предназначенного для силосования многолетних трав [2]. Основные компоненты для приготовления биоконсерванта — торф и отходы птицеводства (помет). В каскадном технологическом процессе, включающем ферментацию и экстракцию, получается жидкий биопрепарат с высоким титром полезных молочнокислых микроорганизмов, питательных и физиологически активных веществ. Однако данный технологический процесс можно видоизменить, получая другие варианты биоконсервантов целевого назначения.

Цель настоящей работы – оценить необходимость оптимизации процесса получения нового биоконсерванта, предназначенного для силосования многолетних трав, используя сравнение двух способов его приготовления (запатентованного и модифицированного).

#### Материалы и методы

В результате проведенных ранее исследований нами был разработан способ получения биоконсерванта, который мы можем обозначить как базовую технологию. Базовый способ включает внесение в торфопометную смесь в качестве биодобавки отходов мукомольного производства (ОММП), а в качестве экстрагента – использование раствора калия фосфорнокислого ( $K_2HPO_4$ ) [2]. С целью формирования биоконсерванта повышенной эффективности мы заменили используемые ранее биодобавку и экстрагент, поэтому данный способ можем обозначить уже как новую технологию. По новой технологии нами была использована многокомпонентная биодобавка, в состав которой вошли помимо отходов мукомольного производства зола лиственных пород деревьев, аскорбиновая кислота и калий фосфорнокислый (Рисунок 1).



Рисунок 1. Схема получения биоконсерванта с использованием разных стимуляторов и экстрагентов: по базовой технологии – слева, по новой – справа.

Далее все технологические процессы по новой технологии проходили без изменений до этапа экстракции. На этом этапе по новой технологии в качестве экстрагента был выбран раствор уксусной кислоты ( $\text{CH}_3\text{COOH}$ ) [3, 4].

В ходе эксперимента изучали образцы исходной и ферментируемой массы, продукты ферментации и готовые жидкофазные биоконсерванты общепринятыми методами по ГОСТу:

– биохимическими, включающими определение содержания сухого вещества и величину рН, а также активности ферментов целлюлозоразрушающего блока (инвертаза и целлюлаза) [5];

– микробиологическими, позволяющими за счет реализации метода культивирования проб на питательных средах и подсчета выросших колоний определить общую обсемененность микрофлорой или общее микробное число (ОМЧ).

Исследования проводились на базе отдела биотехнологий ФГБНУ ВНИИМЗ. Все исследования были проведены не менее чем в 3-х повторностях и статистически обработаны с помощью компьютерных программ Microsoft Excel, STATGRAPHICS Plus версия 2.1.

### Результаты и их обсуждение

Первоначально необходимо было определить целесообразность внесения многокомпонентной биодобавки, так как все дополнительно вносимые элементы, оказывая стимулирующее действие на микрофлору исходной смеси и активируя процесс ферментации, однако, увеличивают стоимость продукта. Сравнение двух технологий получения биоконсерванта (базовой и новой) было проведено в динамике — в течение всего процесса формирования биоконсерванта.

Величина рН, характеризующая реакцию среды субстрата в изучаемых процессах изменялась незначительно, постепенно увеличиваясь к завершению ферментации (Рисунок 2).

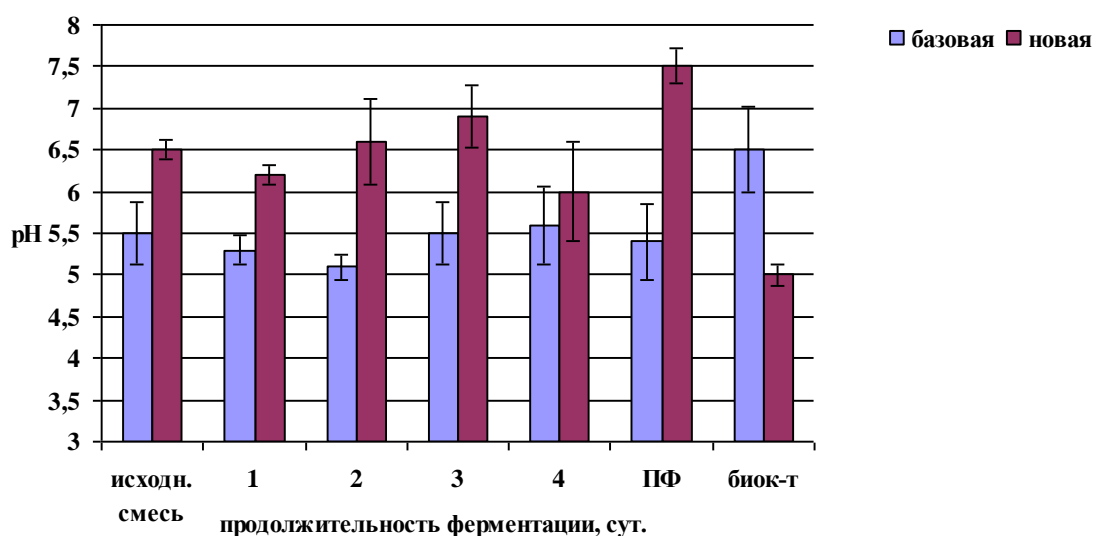


Рисунок 2. Динамика рН в процессе формирования биоконсерванта по базовой и новой технологиям

Было отмечено достоверное увеличение рН к концу процесса ферментации по новой технологии. Внесение многокомпонентного стимулятора активизировало рост общей микрофлоры и процессы трансформации, на что указывали более высокие значения рН в течение всего периода ферментации по сравнению с базовой технологией. На этапе экстракции величина рН биоконсервантов изменялась в зависимости от экстрагента:

повышалась до 6,5 в базовой технологии в связи с использованием щелочного экстрагента  $K_2HPO_4$  и соответственно снижалась до 4,9 в новой технологии из-за кислотного экстрагента  $CH_3COOH$ .

Исследование динамики роста смешанной микрофлоры (общее микробное число = ОМЧ) в процессе ферментации показало (Таблица), что внесение многокомпонентного стимулятора обеспечивало активный прирост микрофлоры (на порядок) еще в исходной торфопометной смеси. Ферментационный период характеризовался волнообразным изменением численности смешанной микрофлоры в образцах, отобранных при приготовлении биоконсерванта, как по базовой, так и по новой технологии. На этапе экстракции вариант с базовым экстрагентом характеризовался бурным ростом микрофлоры, так как раствор калия фосфорнокислого содержит запас питательных веществ и стимулирует развитие микроорганизмов. В варианте с новым экстрагентом также наблюдалось увеличение ОМЧ, но общее содержание микрофлоры в готовом биоконсерванте было ниже на порядок, по сравнению с базовой технологией, что объяснялось ингибирующими свойствами уксусной кислоты. При этом следует иметь в виду, что важным микробиологическим показателем при оценке процессов получения биоконсервантов является динамика молочнокислой микрофлоры, которая даже при пониженном титре общей микрофлоры в процессах с кислотными экстрагентами может оказаться преобладающей. Однако данное предположение требует дополнительной проверки.

Таблица.

ДИНАМИКА СМЕШАННОЙ МИКРОФЛОРЫ (ОМЧ)  
 В ПРОЦЕССЕ ФОРМИРОВАНИЯ БИОКОНСЕРВАНТА  
 ПО БАЗОВОЙ И НОВОЙ ТЕХНОЛОГИЯМ

Процесс ферментации	исходная смесь	Количество микрофлоры, КОЕ/мл				ПФ	биок-т
		1 сут.	2 сут.	3 сут.	4 сут.		
Базовая технология	1,94±1,26x10 <sup>8</sup>	1,12±0,95x10 <sup>9</sup>	7,82±3,96x10 <sup>8</sup>	7,92±3,77x10 <sup>8</sup>	4,32±1,82x10 <sup>8</sup>	2,12±1,4x10 <sup>9</sup>	8,14±4,15x10 <sup>11</sup>
Новая технология	6,57±3,41x10 <sup>9</sup>	4,25±1,0x10 <sup>8</sup>	7,51±5,55x10 <sup>8</sup>	1,96±0,96x10 <sup>9</sup>	4,09x10 <sup>8</sup>	1,76±0,61x10 <sup>8</sup>	3,97±3,52x10 <sup>10</sup>

Обратимся теперь к тому факту, что формирование биоконсерватов по обеим технологиям осуществлялось при использовании торфа. Большое значение торфа, как компонента исходной смеси, заключается в значительном количестве в нем углеродсодержащих веществ, которые служат источником энергии для микроорганизмов. В процессе ферментации исходный субстрат эффективно разрушается ими до мономеров из-за активности специфических ферментов — целлюлазы и инвертазы. Целлюлазы способны разрушать высокомолекулярные углеродсодержащие соединения, а инвертазы — образующиеся вслед за этим продукты распада. Эти ферменты фактически обеспечивают переработку трудно разлагаемых растительных остатков, входящих в состав торфа, поэтому именно они и поставляют необходимые углеродсодержащие соединения для микроорганизмов, участвующих в реакциях биосинтеза [6].

Инвертазно-целлюлазное отношение ферментов целлюлозоразрушающего блока (отражающее эффективность распада и преобразования труднодоступных углеродсодержащих соединений) в базовой технологии носило волнообразный характер (Рисунок 3) с двумя выраженными пиками: в начале ферментации (спустя одни сутки) и в конце процесса (спустя четверо суток).

Внесение многокомпонентного стимулятора в исходную смесь незамедлительно сопровождалось всплеском данного показателя, что свидетельствует о повышенной активности инвертазы в этот период, превышающей активность фермента в базовой почти в 2 раза. В начале ферментации при проведении процесса по новой технологии наблюдалось снижение инвертазно-целлюлазного отношения, а в середине процесса – очень плавное увеличение данного показателя. Конец процесса в обоих случаях характеризовался спадом инвертазно-целлюлазного отношения, который совпадал с одновременным увеличением численности микроорганизмов (Таблица).



Рисунок 3. Динамика инвертазно-целлюлазного отношения (у. е.) в процессе формирования биоконсерванта по базовой и новой технологиям.

Итак, использование многокомпонентного биостимулятора обеспечило высокое инвертазно-целлюлазное отношение уже в исходной смеси, фактически опережая регулируемую ферментацию, свидетельствуя о немедленной активизации всего процесса биоконверсии и отражая экспрессное расщепление сложных углеродсодержащих веществ до углеводов — ди- и моносахаров. Резкое снижение инвертазной активности в процессе дальнейшей ферментации при реализации новой технологии объясняется, по-видимому, тем, что комплексный стимулятор (ОММП + зола лиственных пород деревьев + аскорбиновая кислота + калий фосфорнокислый) в отличие от ОММП эффективно отработал именно на начальных этапах.

### Выводы

Таким образом, анализ динамики некоторых показателей свидетельствовал о целесообразности использования нового многокомпонентного стимулятора, способствующего интенсификации реакций распада углеродсодержащих соединений до мономеров — моносахаров, впоследствии используемых микрофлорой при формировании биоконсерванта. Новая технология имела существенное отличие еще на этапе подготовки

исходной смеси — в 2 раза более высокое инвертазно-целлюлазное отношение. На этапе экстракции инвертазно-целлюлазное отношение резко падало, сигнализируя о завершении трансформации углеродсодержащих соединений в обоих биоконсервантах. При этом необходимо отметить, что замена экстрагента в варианте новой технологии позитивно повлияла на качество биоконсерванта: снизилась его активная кислотность (до 4,9).

Более низкое (на порядок) содержание смешанной микрофлоры в биоконсерванте, полученном по новой технологии, не может считаться определяющим признаком для отрицания нового алгоритма. Это связано с тем, что в структуре ОМЧ биоконсерванта, полученного по новой технологии, содержание молочнокислой микрофлоры (ключевого показателя для биоконсервантов) может оказаться выше, чем в биоконсерванте, получаемом по базовой технологии, что требует дополнительной проверки.

#### Список литературы:

1. Косолапов В. М. Роль кормопроизводства в обеспечении продовольственной безопасности России // *Адаптивное кормопроизводство*. 2010. №1. С. 16-19.
2. Способ получения биопрепарата для кормопроизводства. Патент РФ № 25557191 / Рабинович Г. Ю., Васильева Е. А., Ковалев Н. Г. Бюллетень №20. опубл. 20.07.15.
3. Рабинович Г. Ю., Васильева Е. А. Процесс создания нового биоконсерванта для силосования кормовых культур // *Вестник российской сельскохозяйственной науки*. 2017. №5. С. 28-30. <https://doi.org/10.30850/vrsn/2019/1/36-39>
4. Рабинович Г. Ю., Васильева Е. А. Оценка модификации способа получения биоконсерванта для силосования многолетних трав по ферментативной активности // *Вестник российской сельскохозяйственной науки*. 2019. №1. С. 36-39. DOI: 10.30850/vrsn/2019/1/36-39
5. Рабинович Г. Ю., Ковалев Н. Г., Сульман Э. М. Биоконверсия органического сырья в удобрения и кормовые добавки (микробиологические аспекты). Тверь: Твер. гос. техн. ун-т, 1999. 167 с.
6. Теоретические основы биоферментации / под ред. Н. Г. Ковалева, Г. Ю. Рабинович, Б. М. Малинина, Э. М. Сульман и др. Тверь: ВНИИМЗ, 2000. 36 с.

#### References:

1. Kosolapov, V. M. (2010). Fodder Production Role in the Food safety control of Russia. *Adaptive Fodder Production*, (1). 16-19. (in Russian)
2. Spособ polucheniya biopreparata dlya kormoproizvodstva. Patent RF № 25557191. Rabinovich G. Yu., Vasil'yeva Ye. A., Kovalev N. G. 20, opubl. 20.07.15. (in Russian)
3. Rabinovich, G. Yu., & Vasil'yeva, Ye. A. (2017). The creating process of a new preserving agent for the forage crops silage making. *Vestnik of the Russian agricultural sciences*, (5). 28-30. <https://doi.org/10.30850/vrsn/2019/1/36-39> (in Russian)
4. Rabinovich, G. Yu., & Vasil'yeva, Ye. A. (2019). Estimation of the Biopreservative Obtaining Method Modification for Perennial Grasses Silage making by Fermentative Activity. *Vestnik of the Russian agricultural sciences*, (1). 36-39. doi:10.30850/vrsn/2019/1/36-39 (in Russian)
5. Biokonversiya organicheskogo syr'ya v udobreniya i kormovyye dobavki (mikrobiologicheskiye aspekty). (1999). Pod red. G. Yu. Rabinovich, N. G.Kovaleva, E. M. Sul'man. Tver': TGTU, 168. (in Russian)

6. Teoreticheskiye osnovy biofermentatsii. (2000). Pod red. N. G. Kovaleva, G. Yu. Rabinovich, B. M. Malinina, E. M. Sul'man. Tver': VNIIMZ. 36. (in Russian)

*Работа поступила  
в редакцию 19.07.2019 г.*

*Принята к публикации  
25.07.2019 г.*

---

*Ссылка для цитирования:*

Васильева Е. А., Рабинович Г. Ю. Оптимизация процесса получения нового биоконсерванта для силосования многолетних трав // Бюллетень науки и практики. 2019. Т. 5. №9. С. 201-208. <https://doi.org/10.33619/2414-2948/46/24>

*Cite as (APA):*

Vasilyeva, E., & Rabinovich, G. (2019). The Obtaining Process Optimization a New Biological Preservative for Ensiling of Perennial Grasses. *Bulletin of Science and Practice*, 5(9), 201-208. <https://doi.org/10.33619/2414-2948/46/24> (in Russian).