

На правах рукописи



**Сарычева Анастасия Сергеевна**

**БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ПОЛУЧЕНИЯ АЛЬТЕРНАТИВНОГО  
КОРМОВОГО БЕЛКА ИЗ ЛИЧИНОК *MUSCA DOMESTICA***

03.01.06 – биотехнология (в том числе бионанотехнологии)

**АВТОРЕФЕРАТ**

диссертации на соискание ученой степени  
кандидата сельскохозяйственных наук

Саратов – 2019

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Саратовский государственный аграрный университет имени Н.И. Вавилова».

**Научный руководитель:**

доктор биологических наук, доцент  
**Ларионова Ольга Сергеевна**

**Официальные оппоненты:**

**Манукян Вардгес Агавардович**, доктор сельскохозяйственных наук, профессор, "Всероссийский научно-исследовательский и технологический институт птицеводства" Российской академии наук, заведующий отделом питания птицы ФНЦ

**Лысенко Юрий Андреевич**, кандидат биологических наук, доцент, ФГБОУ ВО «Кубанский государственный аграрный университет имени И. Т. Трубилина», доцент кафедры биотехнологии, биохимии и биофизики

**Ведущая организация:**

ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный аграрный университет»

Защита состоится «\_\_» \_\_\_\_\_ 2019 года в \_\_00 часов на заседании диссертационного совета Д 220.061.07 на базе ФГБОУ ВО «Саратовский государственный аграрный университет имени Н.И. Вавилова» по адресу: 410005, г. Саратов, ул. Соколова, 335, УК № 3, диссертационный зал.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБОУ ВО «Саратовский ГАУ» и на сайте [www.sgau.ru](http://www.sgau.ru)

Отзывы направлять ученому секретарю диссертационного совета по адресу: 410012, г. Саратов, Театральная площадь, д. 1, ученому секретарю диссертационного совета.

Автореферат разослан «\_\_» \_\_\_\_\_ 2019 года

Учёный секретарь  
диссертационного совета

Карпунина Лидия Владимировна

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Актуальность темы.** В связи увеличением населения планеты, и, как следствие, интенсификацией сельского хозяйства возникает потребность в поиске альтернативных источников белка, используемых для кормления животных. Насекомые в этом отношении имеют огромный потенциал, в том числе для решения вопроса глобальной продовольственной безопасности (Боярский Л.Г., 2001). Разработка нетрадиционных способов получения кормового белка с использованием личинок насекомых, утилизирующих органические отходы животноводства, представляется весьма перспективным направлением решения данной проблемы. Исследования показывают, что с этой целью наиболее приемлемы синантропные виды мух (Колтыпин Ю.А., 1983; Mustapha A.K. 2000; Adeniji A. 2007; Adesulu E.A., Charlton A.J. et al., 2015). Следует отметить, что полноценное кормление животных зависит от сбалансированности рациона по основным компонентам, а именно аминокислотному и микроэлементному составу (Кочиш И.И., 2007). Например, селен является составным компонентом более 30 жизненно важных биологически активных соединений, присутствующих в организме животных, входит в активные центры ферментов. В организме животных кобальт также активирует ряд ферментов, что в свою очередь, способствует улучшению использования белка, кальция и фосфора, усиливает рост молодняка и повышает естественную резистентность организма к различным заболеваниям. Микроэлементы селен, и кобальт оказывают значительное влияние на физиологические и продуктивные показатели сельскохозяйственных животных. При этом большое значение имеет оптимальное обеспечение животных данными микроэлементами. В этой связи, использование селен и кобальтсодержащих препаратов органического синтеза для обогащения субстрата с целью выращивания биомассы личинок *Musca domestica* позволит получить альтернативный кормовой белок, обладающий меньшей токсичностью и высокой биодоступностью. Кроме того, побочный продукт производства кормового белка - пупарии личинок могут быть использованы в качестве сырья для производства хитозана. Данный факт свидетельствует о возможности безотходного производства кормового белка. Результаты многочисленных исследований свидетельствуют о том, что биомасса личинок *Musca domestica* обладает большим потенциалом для применения в качестве кормового белка в животноводстве, вместе с тем вопросы увеличения содержания сырого протеина и улучшения аминокислотного состава в биомассе личинок остаются открытыми и требуют дополнительного исследования (Makkara H.P.S. et al., 2014; Pieterse E. et al., 2014; Khan S. et al., 2018). Кроме того, изучение влияния такого белка на физиологические и продуктивные показатели цыплят – бройлеров представляют научный и практический интерес.

**Степень разработанности темы исследования.** Имеющиеся в открытой печати

литературные данные подтверждают целесообразность использования насекомых для получения кормового белка, в частности имеются сведения о влиянии белка из личинок *Musca domestica* на организм животных. Подобные исследования отражены в работах Ю.А. Колтыпина (1983), Ж.М. Исимбекова (2005), J.O. Atteh и D.D. Adedoyin (1993), A.O. T.M. Awoniyi (2004), E.S. Erondu (2004), B.A. Aletor (2005), A. Adeniji (2007), Aniebo (2010), A.J. Charlton (2015). В отдельных работах изучалось обогащение субстрата для культивирования личинок неорганическими формами микроэлементов. Вместе с тем, более поздними исследованиями P. Schlegel (2007), W. Wang (2017), доказано, что органические формы микроэлементов обладают меньшей токсичностью и более высокой биологической доступностью. В этой связи выбор темы работы был обусловлен актуальностью данных исследований и недостаточностью сведений по получению альтернативного кормового белка с повышенным содержанием сырого протеина и улучшенным аминокислотным составом.

**Цель работы** – разработка способа получения альтернативного кормового белка с повышенным содержанием сырого протеина и улучшенным аминокислотным составом.

В соответствии с указанной целью были поставлены следующие задачи:

1. Подобрать оптимальные концентрации селена и кобальта для обогащения субстрата.
2. Разработать оптимальный способ обработки биомассы личинок.
3. Проанализировать динамику содержания сырого протеина, аминокислотного состава биомассы личинок *Musca domestica*, выращенных на обогащенном субстрате.
4. Разработать способы утилизации побочного продукта (хитина) при получении кормового белка.
5. Изучить влияние альтернативного кормового белка на физиологические и продуктивные показатели цыплят – бройлеров кросса «Кобб 500».
6. Рассчитать экономическую эффективность от использования альтернативного кормового белка.

**Научная новизна.** Впервые установлено, что концентрация селена и кобальта 15 мг/кг в субстрате является оптимальной для получения альтернативного кормового белка с повышенным содержанием белка и улучшенным аминокислотным составом. Выявлено влияние микроэлементов в составе субстрата на химический состав биомассы личинок *Musca domestica*. Впервые была изучена динамика аминокислотного состава биомассы личинок, при использовании предложенного нами субстрата. При этом было выявлено, что максимальное содержание многих изучаемых аминокислот по сравнению с контролем было достигнуто уже через 48 ч культивирования личинок на субстрате с добавлением Se 15 мг/ кг + Co 15 мг/кг. Максимальное количество лизина, фенилаланина, лейцина+изолейцина,

тирозина было достигнуто через 48 часов, а гистидина, валина, треонина, серина через 72 часа культивирования. Помимо этого, установлено, что максимальная концентрация сырого протеина составила 61,72% после 72 часов культивирования. Было показано, что использование в кормлении цыплят – бройлеров кросса «Кобб 500» альтернативного кормового белка из личинок *M. domestica* способствует улучшению физиологических и продуктивных показателей цыплят.

**Теоретическая и практическая значимость работы.** Проведённые исследования вносят существенный вклад в биотехнологические аспекты получения кормового белка улучшенного состава из биомассы личинок *Musca domestica*. По материалам диссертационной работы получены два патента на изобретение: «Способ получения хитозана» (№ 2016110254, от 06.04.2017, бюл. 2) и «Способ получения биомассы личинок *Musca domestica* для получения кормовой муки» (№2017137041, от 29.10.2018, бюл. 3). Апробировано введение, обогащенного кормового белка в рацион цыплят и изучено его влияние на некоторые их физиологические и продуктивные показатели. Результаты исследований внедрены в рамках реализации гранта Фонда содействия развитию малых форм предприятий в научно-технической сфере (У.М.Н.И.К.). Способ получения кормовой муки из биомассы личинок *M. domestica* и способ получения хитозана внедрены в ООО «Органика», о чем свидетельствует акт о внедрении № 01-05/2018 от 18.05.2018. Результаты настоящих исследований используются в учебном процессе при чтении лекций и проведении лабораторных занятий со студентами факультета ветеринарной медицины, пищевых и биотехнологий ФГБОУ ВО «Саратовский государственный аграрный университет имени Н.И. Вавилова».

**Методология и методы исследований.** Методология данного диссертационного исследования заключалась в поиске способа получения обогащенного кормового белка из альтернативных источников сырья. Для достижения цели диссертационной работы, обоснования ее теоретической и практической значимости нами был использован комплекс сертифицированных методов, включающих физико-химические, биотехнологические, зоотехнические, биохимические, морфологические, микробиологические, статистические.

**Основные положения, выносимые на защиту:**

1. Оптимальной концентрацией для обогащения субстрата при культивировании биомассы личинок *Musca domestica* для получения кормового белка является Se+Co 15 мг/кг.
2. Эффективный способ обработки биомассы личинок *M. domestica* достигается при использовании инфракрасной сушки при температуре 50 °С в течение 6 часов с максимальной сохранностью сырого протеина.

3. Кормовой белок, полученный на субстрате, обогащенном Se+Co 15 мг/кг, содержал в 3,72% больше сырого протеина по отношению к контролю и обладал улучшенным аминокислотным составом.

4. Получен хитозан со степенью деацетилирования 88-95%, содержанием протеинов менее 0,005% и влажностью менее 5%.

5. Кормовой белок, полученный из личинок *M. domestica* и введенный в рацион бройлеров кросса «Кобб 500», оказывает положительное влияние на физиологические и продуктивные показатели цыплят.

6. Использование альтернативного кормового белка в кормлении бройлеров приводит к снижению себестоимости на 46%, росту маржинального дохода на 149 %, увеличению уровня рентабельности на 110 %.

**Работа выполнена** на кафедре микробиологии, биотехнологии и химии ФГБОУ ВО «Саратовский государственный аграрный университет имени Н.И. Вавилова».

**Степень достоверности и апробация результатов.** Основные положения диссертационной работы доложены и обсуждены на: Международной научно-практической конференции «Биотехнология: реальность и перспективы» (Саратов, 2014); III Ежегодной научно-практической конференции "Биотехнология: наука и практика" (Ялта, 2015); Молодежном научно-инновационном конкурсе «УМНИК» (Саратов, 2015); Конкурсе научно-инновационных работ молодых ученых и студентов СГАУ, Грант Ректора (Саратов, 2016); II этапе Всероссийского конкурса на лучшую научную работу среди студентов, аспирантов и молодых ученых высших учебных заведений Минсельхоза России в ПФО (Киров, 2016); III этапе Всероссийского конкурса на лучшую научную работу среди студентов, аспирантов и молодых ученых высших учебных заведений Минсельхоза России (Оренбург, 2016); 19-ой Российской агропромышленной выставке «Золотая осень» в номинации «Инновационные разработки в области животноводства», получена бронзовая медаль за разработку «Принципиально новая кормовая добавка с улучшенным аминокислотным составом и обогащенная микроэлементами» (Москва, 2017).

**Публикации.** По теме диссертации опубликовано 12 работ, в том числе 1 статья в журнале, индексируемом в международных базах данных Scopus и Springer, 2 патента.

**Личный вклад соискателя.** Основные этапы диссертационной работы выполнены автором самостоятельно. Автору принадлежат организация и осуществление биотехнологических, физико-химических, микробиологических, зоотехнических и гематологических исследований, непосредственное участие в обсуждении полученных результатов и их интерпретации, формулировке выводов, подготовке публикаций.

**Структура и объем диссертации.** Диссертация состоит из введения, обзора литературы, описания объекта и методов исследования, результатов исследований и их обсуждения, выводов, списка использованных литературных источников, содержащего 159 наименований, в том числе 79 иностранных. Работа изложена на 113 страницах, иллюстрирована 18 таблицами и 12 рисунками.

**Благодарность.** Автор выражает благодарность зав. УНИЛ по определению качества пищевой и сельскохозяйственной продукции ФГБОУ ВО Саратовский ГАУ д.т.н., Банниковой А.В., начальнику отделения физико-химических исследований лаборатории ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Саратовской области» Волочай Г.Г..

## СОБСТВЕННЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

### Объект, материалы и методы исследований

В качестве биологического объекта исследований были использованы личинки *Musca domestica*, в качестве субстрата – куриный помет. Для проведения исследований был оборудован специальный инсектарий, в котором стабильно поддерживалась температура воздуха на уровне 28 – 30 °С и относительная влажность 60 – 70 %. Насекомые содержались в специальных стационарных садках.

Для обогащения субстрата, на котором выращивали личинок *Musca domestica*, использовали ДАФС – 25 и аспарагинат кобальта. Использовали следующие концентрации селена: 1; 5; 7; 15; 50; 70 мг/кг. При обогащении субстрата селеном и кобальтом использовали следующие концентрации: Se+Co 5 мг/кг, Se+Co 15 мг/кг, Se+Co 20 мг/кг.

Для изучения динамики массы личинок каждые 24 часа определяли массу 30 экземпляров взвешиванием на аналитических весах ALC-210d4 (d = 0,0001, Acculab, USA).

Определение сырого протеина проводили методом Кьельдаля (ГОСТ 13496.4-93). Изучение аминокислотного состава биомассы личинок проводили с помощью системы «КАПЕЛЬ® 105М» согласно методике (Комарова Н.В., 2006; Майорова Н.А., 2009).

Динамику массы личинок *Musca domestica* определяли через 24, 48, 72 и 96 часов, анализ аминокислотного состава проводили через 48, 72 и 96 часов.

Содержание микроэлементов селена и кобальта в биомассе личинок *Musca domestica* определяли с помощью спектрометра атомно-абсорбционного «КВАНТ-2» согласно ГОСТ 33445-2015 и ГОСТ 31651-2012.

Для обработки личинок использовали следующее оборудование: лиофильная сушка ScanVacCoolSafe (режим: -55 °С, 24 часа), инфракрасный сушильный шкаф «Мастер сушки СШ2-130» (режим: 50 °С, 6 часов) и сушильный шкаф СНОЛ-3,9 (режим: 50 °С, 12 часов).

Для получения хитозана из хитина пупариев *Musca domestica* использовали

разработанную нами технологию. Выход хитозана составлял 70-80 %.

Изучение влияния альтернативного кормового белка на физиологические и продуктивные показатели цыплят проводили на цыплятах – бройлерах кросса «Кобб 500». В течение подготовительного периода вся подопытная птица находилась в одинаковых условиях кормления и содержания. Состав рациона: пшеница – 40,61%, кукуруза – 15,00%, соя полножирная – 24,62%, шрот соевый – 12,00 %, жмых подсолнечный – 3,00%, рыбная мука – 1,49%, монокальцийфосфат – 0,53%, известняковая мука – 0,75%, витаминно-минеральный премикс – 2,00%. Для проведения эксперимента подопытных животных формировали в группы путем подбора здоровых, кондиционных цыплят, выровненных по живой массе и развитию в суточном возрасте. Условия содержания, плотность посадки, фронт кормления и поения, параметры микроклимата во всех группах были одинаковыми (Aktan S., 2004; Cobb broiler..., 2010). Подготовительный этап длился в течение 10 дней, в течение которых вели наблюдения за птицей. Было сформировано три группы цыплят – бройлеров кросса «Кобб 500» по 50 голов в каждой. Технология содержания птицы напольная на глубокой древесностружечной подстилке. Первую (контрольную) группу кормили вышеуказанным рационом, вторую группу (I опытная): пшеница – 40,61%, кукуруза – 15,00%, соя полножирная – 24,62%, шрот соевый – 3,49 %, жмых подсолнечный – 3,00%, монокальцийфосфат – 0,53%, известняковая мука – 0,75%, витаминно-минеральный премикс – 2,00% и 10% обогащенной муки из биомассы личинок, третью группу (II опытная) – рацион: пшеница – 40,61%, кукуруза – 15,00%, соя полножирная – 24,62%, шрот соевый – 3,49 %, жмых подсолнечный – 3,00%, монокальцийфосфат – 0,53%, известняковая мука – 0,75%, витаминно-минеральный премикс – 2,00% и 10% рыбной муки. Все параметры микроклимата были одинаковыми для всех групп цыплят и соответствовали зооветеринарным требованиям. Во время эксперимента антибиотики не использовали. Исследование проводили в течение 24 дней с кормлением и поением *ad libitum* на протяжении всего экспериментального периода. Динамику живой массы цыплят – бройлеров (г) изучали на 14, 19 и 24 день. Аспирацию крови с целью биохимических исследований осуществляли на 5 день и в конце эксперимента в вакуумные пробирки для *in vitro* диагностики «Improvacuter» (Guangzhou Improve Medical Instruments Co. Ltd, China). Взятие крови производили из подкрыльцовой вены. Для контроля прироста массы тела подопытных цыплят на 14, 19 и 24 день проводили их взвешивание. Микробиоценоз кишечника цыплят изучали согласно методическим рекомендациям «Выделение и идентификация бактерий желудочно-кишечного тракта животных» от 11.02.2004 №13-5-02/2043. Определение массовой доли влаги мяса осуществляли при высушивании в сушильном шкафу при температуре  $(103 \pm 2) ^\circ\text{C}$  и при температуре  $(150 \pm 2) ^\circ\text{C}$  согласно ГОСТ 9793-2016.



Массовую долю жира определяли с использованием экстракционного аппарата Сокслета и ускоренного метода с использованием фильтрующей делительной воронки согласно ГОСТ 23042-2015. По ГОСТ 25011-2017 использовали метод Къельдаля и фотометрический метод по определению белка в мясе. Массовую долю общей золы определяли согласно ГОСТ 31727-2012.

Статистическую обработку результатов экспериментов проводили общепринятым методом (Лакин Г.Ф., Биометрия, 1990). Расчеты и построение таблиц осуществляли с помощью программы «Microsoft Office Excel 2010», входящей в пакет программ «Microsoft Office 2010».

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

### Подбор оптимальных концентраций селена и кобальта для культивирования личинок *Musca domestica*

Следует отметить, что в первые сутки эксперимента, масса личинок *M. domestica*, культивируемых на субстрате с содержанием микроэлементов селена и кобальта, была меньше по сравнению с контролем, за исключением субстрата с содержанием селена в концентрации 5 мг/кг (Рисунок 1).

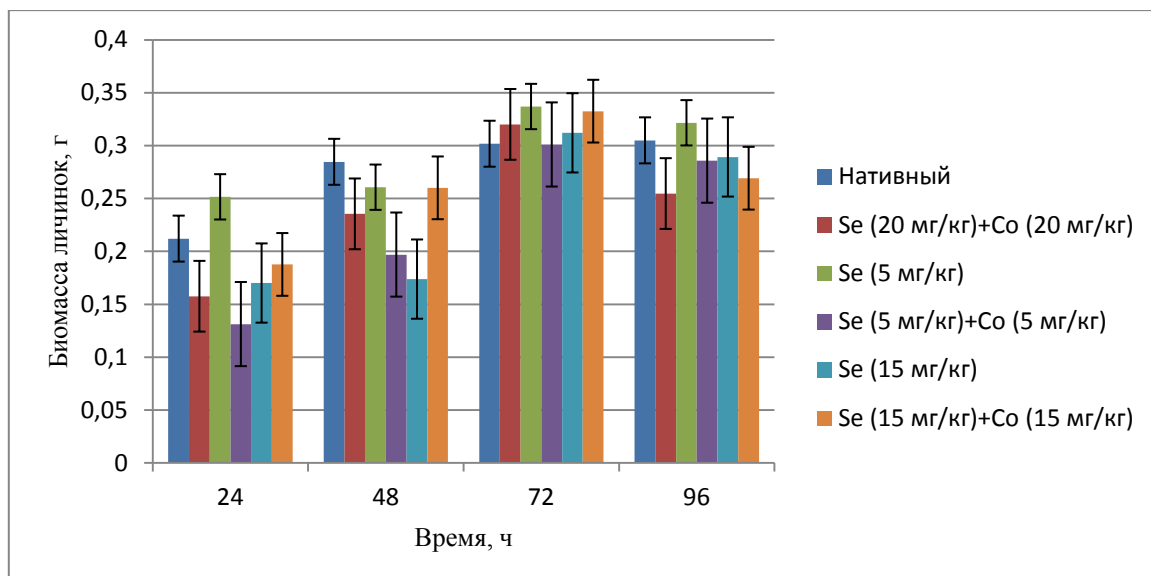


Рисунок 1 – Динамика биомассы личинок (30 экз.) *Musca domestica*

Через 48 часов при культивировании личинок на нативном субстрате отмечали их максимальную биомассу. Однако через 72 часа на субстрате с добавлением Se (5 мг/кг) и Se (15 мг/кг) + Co (15 мг/кг) был зарегистрирован их интенсивный рост. После 96 часов выращивания личинок максимальную биомассу отмечали при культивировании на субстрате Se (5 мг/кг). Таким образом, на данном этапе исследования было выявлено, что для

получения максимальной биомассы оптимальными концентрациями являются Se (5 мг/кг), Se (15 мг/кг) + Co (15 мг/кг) после 72 часов и Se (5 мг/кг) после 96 часов культивирования.

### **Изучение химического состава биомассы личинок *Musca domestica***

Для изучения влияния микроэлементов в различных концентрациях на содержание сырого протеина, динамику аминокислотного состава биомассы личинок были проведены эксперименты с концентрациями селена 5 и 15 мг/ кг; селена и кобальта 5 мг/ кг, 15 мг/кг и 20 мг/кг, результаты которых представлены в таблице 1. Содержание сырого протеина в биомассе личинок изучали через 72 часа после их культивирования.

Таблица 1 – Содержание сырого протеина в биомассе личинок *Musca domestica*, %

Биомасса личинок, выращенная на различных субстратах	Содержание сырого протеина, %
Контроль	58,00±0,04
Se 5 мг/ кг+Co5 мг/ кг	59,42±0,01
Se 15 мг/ кг +Co15 мг/ кг	61,72±0,06
Se 20 мг/ кг +Co20 мг/ кг	47,92±0,05
Se 5 мг/ кг	55,05±0,03
Se 15 мг/ кг	50,99±0,02

Следует отметить, что комплексное обогащение субстрата микроэлементами селеном и кобальтом в концентрации 15 мг/кг способствовало статически достоверному увеличению содержания сырого протеина 61,72 %, что было на 3,72% больше по сравнению с контролем.

Таким образом, нами была установлена оптимальная концентрация селена и кобальта 15 мг на 1 кг для обогащения субстрата, способствующая увеличению содержания сырого протеина в биомассе личинок.

Полученные нами результаты коррелируют с данными ряда других авторов, по результатам исследований которых содержание сырого протеина в биомассе личинок *M. domestica* варьирует от 40 до 60% (Adesina M.A. et al., 2011; Adewolu M.A. et al., 2010; Aniebo A.O. et al., 2008; Aniebo A.O. and Owen O.J., 2010, Hwangbo J. et al., 2009; Fasakin E.A. et al., 2003; Pretorius Q., 2011).

В современных условиях увеличение рентабельности производства, внедрение безотходных технологий и экологическая безопасность приобретают первостепенное значение. В этой связи для повышения эффективности животноводства чрезвычайно важно учитывать сбалансированность рационов сельскохозяйственных животных по аминокислотному составу. Поскольку уровень конверсии кормового белка в белок мяса сельскохозяйственных животных зависит от рациона. Наиболее эффективно белок используется, когда соотношение отдельных незаменимых аминокислот к доступному лизину идеально или физиологически обусловлено.

Аминокислотный состав определяли в биомассе личинок *M. domestica*, культивированных на обогащенных субстратах со следующими концентрациями селена и кобальта: Se 1 мг/ кг, Se 5 мг/ кг, Se 15 мг/ кг, Se 5 мг/ кг + Co 5 мг/ кг и Se 15 мг/ кг + Co 15 мг/ кг. Данный показатель был изучен нами в динамике зависимости от используемой концентрации селена и кобальта в субстрате.

При изучении динамики аминокислотного состава биомассы личинок было выявлено, что концентрация аминокислот зависит от концентрации селена и кобальта в субстрате и времени выхода личинок из субстрата. Выявлено, что добавление аспарагината кобальта и диацетофенонилселенида (Se 15 мг/ кг + Co 15 мг/ кг) к субстрату приводило к улучшению аминокислотного состава биомассы личинок. Кроме того, прослеживалась зависимость аминокислотного профиля личинок от времени выхода из субстрата. При этом было выявлено, что максимальное содержание многих изучаемых аминокислот по сравнению с контролем было достигнуто уже через 48 ч культивирования личинок на субстрате с добавлением Se 15 мг/ кг + Co 15 мг/кг. Максимальное количество лизина, фенилаланина, лейцина+изолейцина, тирозина было достигнуто через 48 часов, а гистидина, валина, треонина, серина через 72 часа культивирования. Показатель метионина через 48 и 72 часа оставался на одном и том же уровне. Через 96 часов количество аминокислот в биомассе личинок снижалось, за исключением аргинина, пролина и глицина. Таким образом, при выращивании биомассы личинок *M. domestica* на субстрате, обогащенном селеном и кобальтом в количестве 15 мг/кг, большее количество аминокислот достигают максимальной концентрации. Поскольку максимальную массу личинок и содержание сырого протеина регистрировали через 72 часа культивирования, то в дальнейших исследованиях для получения биомассы личинок использовали именно это время.

Анализируя полученные нами данные и сравнивая их с результатами других исследователей можно отметить, что по содержанию валина, лизина, фенилаланина, аргинина, пролина мука из биомассы личинок, выращенная на обогащенном субстрате (Se+Co 15мг/кг) превосходит личинки *M. domestica*, культивированные на субстратах без

добавления селена и кобальта (Aniebo, A.O. et al., 2008, Calvert, C.C. et al., 1969, Hwangbo, J. et al., 2009). Согласно данным полученным Ogunji et al., 2006 личинки *M. domestica* по количеству лизина (4,4%), аргинина (4,6%) глицина (0,9%), валина (1,3%), тирозина (2,5%) значительно уступают биомассе личинок, полученных нами на обогащенном субстрате (Se+Co 15мг/кг) через 72 часа культивирования.

Таким образом, полученные нами данные позволяют сделать вывод, о том, что, предложенная нами методика позволяет получать биомассу личинок с повышенным содержанием сырого протеина и улучшенным аминокислотным составом.

Содержание селена и кобальта в биомассе личинок изучали через 72 часа после культивирования. Как видно из таблицы 2 содержание кобальта в кормовом белке, полученном на субстрате, обогащенном Se и Co в концентрации 15 мг/кг, было 0,64 мг/кг, что практически соответствовало контролю.

Таблица 2 – Содержание селена и кобальта в биомассе личинок, мг/кг

Образец	Кол-во внесенного Co, мг/кг	Содержание Co в личинках мг/кг	Кол-во внесенного Se, мг/кг	Содержание Se в личинках мг/кг
1 контроль	0	0,63±0,06	0	-
2	1	0,62±0,06	1	0,005±0,001
3	5	0,58±0,03	5	0,015±0,002
4	15	0,64 ±0,05	15	0,050±0,005
5	20	0,61±0,05	20	0,090±0,009

Возможно, это связано особенностями метаболизма кобальта в организме насекомых. Однако, содержание Se в данном образце было больше, чем в образцах 2 и 3 в 10 и 3,3 раза соответственно. Несмотря на то, что образец 5 превосходил образец 4 по содержанию селена в 1,8 раза, количество сырого протеина в нем было на 13,8 % меньше, чем в образце 4.

Следовательно, данный факт подтверждает наши предыдущие исследования и свидетельствует о том, что концентрация селена и кобальта 15 мг/кг является оптимальной для получения альтернативного кормового белка.

#### **Утилизация отходов при производстве альтернативного кормового белка**

Побочным продуктом при производстве кормового белка являются пупарии *M. domestica*, представляющие собой хитинсодержащее сырье. Нами был разработан способ получения хитозана из пупариев *M. domestica* и получен патент на изобретение № 2615636 «Способ получения хитозана». Технология получения хитозана заключалась в

депротеинировании, деминерализации и последующем деацетилировании пупариев *M. domestica*. Полученный хитозан представлял собой порошок белого цвета со степенью деацетилирования 88-95%, содержанием протеинов менее 0,005% и влажностью менее 5%. Выход хитозана составлял 70-80 %. Разработанный нами способ получения природного полисахарида хитозана отличается от традиционного использованием более рациональной технологии с низкой себестоимостью.

### **Изучение физиологических и продуктивных показателей цыплят – бройлеров кросса «Кобб 500»**

Для изучения влияния кормового белка с повышенным содержанием сырого протеина и улучшенным аминокислотным составом нами были проведены испытания на цыплятах – бройлерах кросса «Кобб 500». Основным показателем, характеризующим интенсивность обменных процессов в организме птицы, является общий белок крови.

При изучении содержания общего белка крови было выявлено, что данный показатель был выше у цыплят 2 группы, чем в контроле на 10,64% и на 25,52% по отношению к 3 группе птиц, что свидетельствовало о более интенсивно протекающих обменных процессах и нарастающих процессах ассимиляции на заключительном этапе эксперимента, получавшей в составе комбикорма альтернативный кормовой белок (Рисунок 2).

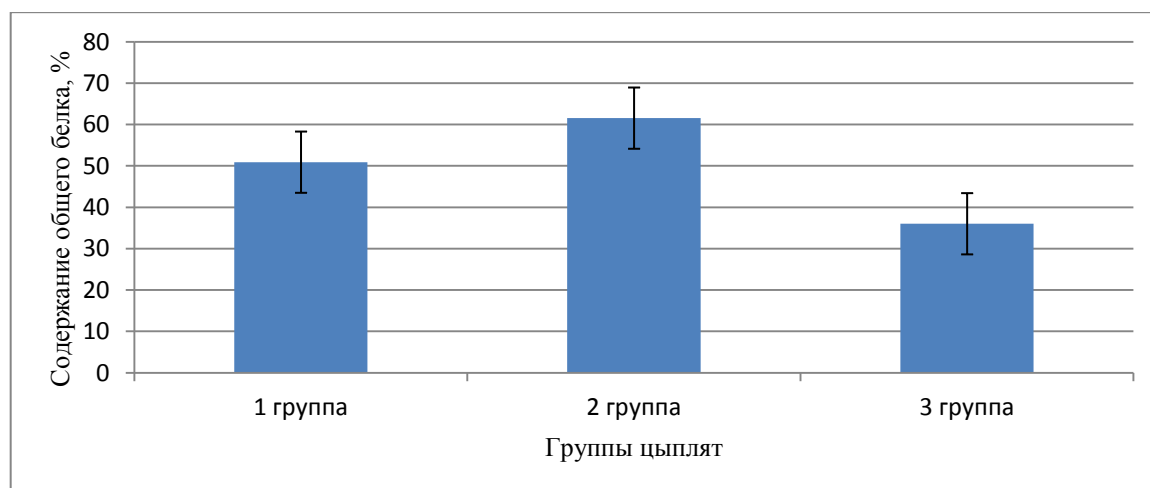


Рисунок 2 – Содержание общего белка в крови цыплят - бройлеров кросса «Кобб 500»

Вместе с тем, следует отметить, что данный показатель находился в пределах физиологически нормальных значений (Карапетян А.К., 2013).

Кроме, того проводили микробиологические исследования по изучению некоторых показателей микробиоценоза кишечника цыплят. Было выявлено (Рисунок 3), снижение

стафилококков во второй группе на  $96,93 \cdot 10^3$  КОЕ/г по сравнению с третьей группой и на  $47,65 \cdot 10^3$  КОЕ/г по сравнению с контролем.

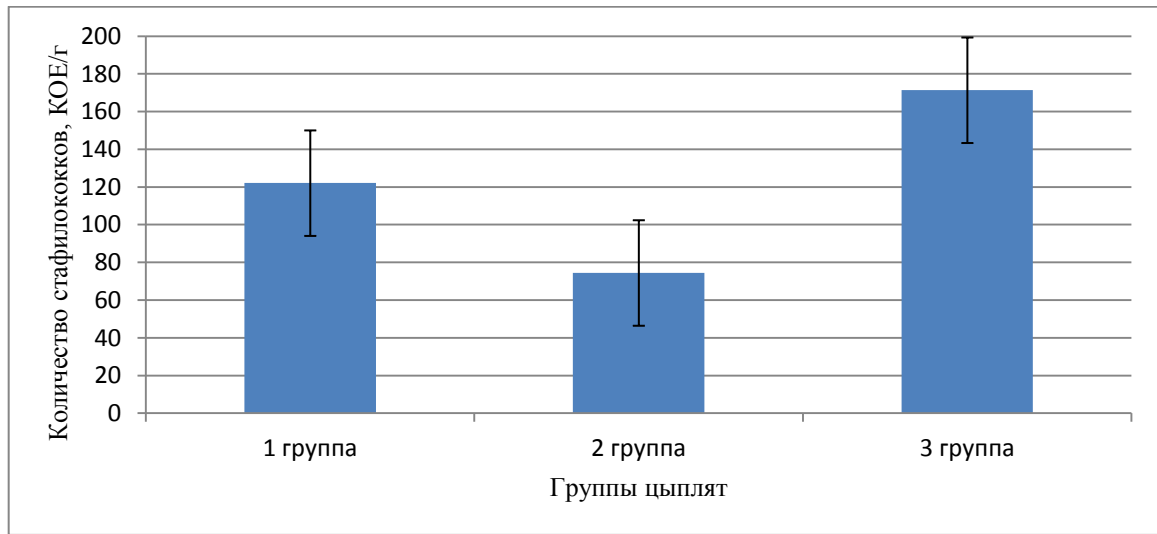


Рисунок 3 – Количество стафилококков в кишечнике цыплят

Стафилококки являются условно-патогенными микроорганизмами, которые занимают значительное место в патологиях сельскохозяйственной птицы, снижение их концентрации на фоне кормления цыплят комбикормом с добавлением биомассы личинок свидетельствует о позитивном влиянии альтернативного кормового белка на организм цыплят. Данный факт может быть обусловлен добавлением в рацион селена и кобальта в составе кормового белка, которые способствуют улучшению микробиоценоза кишечника, поскольку угнетают деятельность ряда патогенных микроорганизмов в желудочно-кишечном тракте (Мишанин Ю. Ф., и др., 2006). Кроме того, биомасса личинок содержит антимикробные пептиды, ненасыщенные жирные кислоты, которые обладают ингибирующим действием на патогенную флору (Пантелеев П. В. и др., 2015; Meneguetti V.T. et al., 2017).

В тоже время во 2 группе наблюдалось увеличение лактобактерий на протяжении всего опыта. На рисунке 4 представлены результаты по исследованию содержания лактобактерий в кишечнике цыплят. Так, лактобактерий во 2 группе было больше на  $191,85 \cdot 10^7$  КОЕ/г, чем в контроле и на  $301,7 \cdot 10^7$  КОЕ/г, чем в 3 группе.

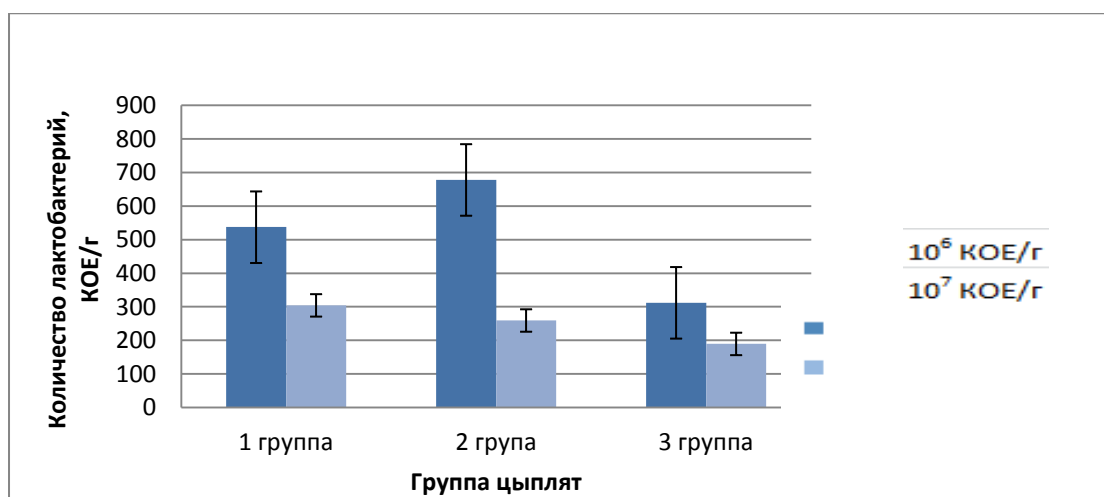


Рисунок 4 – Содержание лактобактерий в кишечнике цыплят

Следовательно, по результатам микробиологического исследования можно сказать, что использование в кормлении цыплят – бройлеров альтернативного кормового белка из личинок *Musca domestica* оказывает заметное выраженное влияние на колонизацию кишечника лактобактериями. Это может быть связано с наличием биологически активных веществ в биомассе личинок, оказывающих позитивное влияние на нормофлору кишечника (Wang G. et al., 2015).

Анализ продуктивных показателей включал в себя прирост живой массы и химический анализ мяса птицы трех групп.

На рисунке 5 представлены результаты начального, промежуточного и конечного взвешивания цыплят – бройлеров.

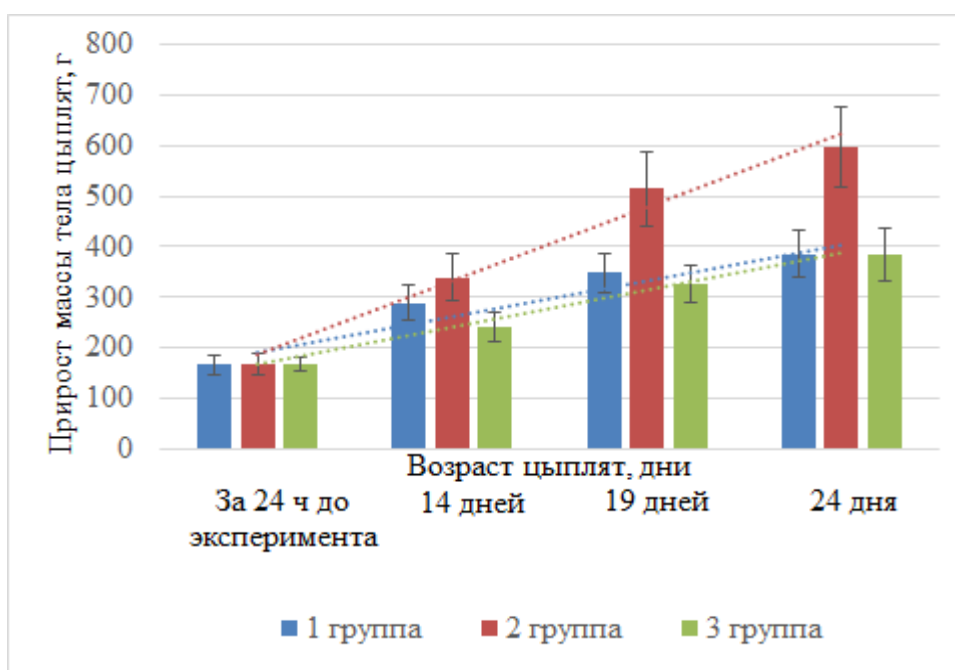


Рисунок 5 –Динамика прироста массы тела цыплят

Во второй группе отмечено значительное повышение прироста массы тела цыплят на протяжении всего эксперимента. Так на 14 сутки эксперимента средний прирост массы тела птиц во второй группе по сравнению с начальным взвешиванием увеличился на 171,5 г, что было на 49,6 г больше, чем в 1 группе, и на 71,9 г – в 3 группе. Взвешивание цыплят – бройлеров в конце эксперимента показало, что прирост массы тела цыплят на 24 сутки был во 2 группе больше в 1,54 и 1,55 раза по сравнению с контролем и 3 группой соответственно, что свидетельствует о высокой эффективности использования кормового белка из биомассы личинок *M. domestica* в составе рационов цыплят.

При изучении химического состава мяса птицы наибольшее содержание белка (Таблица 3) регистрировали во второй группе 20,92%, что на 4,66%; 4,06% было больше контроля и третьей группы соответственно.

Таблица 3 – Химический состав мяса птицы

Наименование показателей, ед. изм.	1 группа	2 группа	3 группа
Массовая доля влаги, %	69 ± 1,2	70,1 ± 2,5	70,7 ± 1,3
Массовая доля жира, %	10,53 ± 0,43	7,96 ± 0,26	9,85 ± 0,37
Массовая доля белка, %	16,26 ± 0,59	20,92 ± 0,63	16,86 ± 0,42
Массовая доля золы, %	0,92 ± 0,04	1,99 ± 0,02	0,99 ± 0,03

Массовая доля жира была во 2 и 3 группе меньше на 2,57% и 0,68%, чем в контроле соответственно. Содержание золы во 2 образце было больше в 2,16 и 2,01 раза, чем в контроле и 3 группе соответственно.

Таким образом, согласно результатам химического анализа, мясо цыплят 2 группы, получавшей в составе комбикорма муку из биомассы личинок в количестве 10% по уровню протеина значительно отличалось от других групп, что свидетельствовало о достаточно высоком уровне энергетического обмена у животных данной группы.



**Экономическая эффективность от использования альтернативного кормового белка в  
кормлении цыплят – бройлеров**

Таблица 4 – Сравнительная экономическая эффективность использования рыбной муки и  
кормового белка из личинок *Musca domestica*

Показатели	Рыбная мука	<i>Musca domestica</i>	Отклонение	
			Абсолют- ное, (+/-)	Относи- тельное, %
Поголовье, гол.	50	50	-	100,00
Валовый прирост живой массы, г	9695	21420	11725	220,94
Расход кормового белка – всего, г	6689,55	9424,8	2735,25	140,89
Расход сырого протеина – всего, г	4362,75	5783,4	1420,65	132,56
Затраты труда, чел.-ч.	720	720	-	100,00
Производственные затраты кормового белка, руб.	555,23	570,20	14,97	102,70
Среднесуточный прирост живой массы, г	10,78	23,80	13,02	220,78
Прирост живой массы, г в расчете на:				
1 гр. сыр. прот.	2,22	3,70	1,48	166,67
1 чел.-ч.	13,47	29,75	16,28	220,86
1 руб. производственных затрат кормового белка	17,46	37,57	20,11	215,18
Расход кормового белка на 1 г прироста живой массы, г сыр. прот.	0,45	0,27	-0,18	60,00
Расход кормового белка на 1 г прироста живой массы, г	0,69	0,44	-0,25	63,77
Производственные затраты на кормление – всего, руб.	1036,88	1248,79	211,91	120,44
Себестоимость 1 кг прироста ж.м., руб.	106,95	58,30	-48,65	54,51
Цена реализации 1 кг, руб.	140,78	140,78	-	100,00
Маржинальный доход от 1 кг, руб.	33,83	82,48	48,65	243,81
Маржинальный доход всего, руб.	327,98	1766,72	1438,74	538,67
Уровень рентабельности, %	31,6	141,5	109,9	-

При сопоставлении показателей экономической эффективности использования в качестве кормовой добавки рыбной муки и кормового белка из биомассы личинок *Musca domestica* мы можем видеть, что его использование более эффективно и целесообразно (Таблица 4). Несмотря на то, что процент содержания сырого протеина в рыбной муке больше (64 %), поедаемость в группе с кормовым белком *Musca domestica* выше, таким образом и расход сырого протеина на 33 % выше, чем в группе с использованием рыбной муки. Это обеспечивает прирост живой массы, который в 2,2 раза превосходит показатели в группе с использованием рыбной муки. Производственные затраты при использовании кормового белка сильно не различаются, при том, что себестоимость кормового белка *Musca domestica* ниже, чем стоимость рыбной муки.

Среднесуточный прирост живой массы в 2,2 раза выше при кормлении *Musca domestica* и составляет 23,8 г. Увеличение показателя прироста живой массы наблюдается и в расчете на 1 г сырого протеина (на 67 %), и на 1 чел.-ч. (на 121%), и на 1 руб. производственных затрат (на 115 %). При этом расход сырого протеина на 1 г прироста живой массы при использовании кормового белка *Musca domestica* ниже на 40 % по сравнению с рыбной мукой.

Таким образом, сокращение удельных затрат и увеличение прироста живой массы ведет к снижению себестоимости на 46%, и следовательно, к росту маржинального дохода на 149 %, а уровня рентабельности на 110 %.

### Заключение

Проведенные нами исследования показали, что использование субстрата с концентрацией микроэлементов Se+Co 15 мг/кг для культивирования личинок *M. domestica* способствует увеличению содержания сырого протеина, улучшению аминокислотного состава и положительно влияет на динамику массы личинок. Полученные нами результаты подтверждают возможность производства муки из личинок *M. domestica* для восполнения дефицита кормового белка в животноводстве.

### Выводы

1. Установлено, что оптимальной концентрацией для обогащения субстрата для культивирования биомассы личинок *Musca domestica* является Se+Co 15мг/кг, что способствовало получению кормового белка с повышенным содержанием сырого протеина и улучшенным аминокислотным составом.

2. Предложен эффективный способ обработки биомассы личинок *M. domestica* при помощи инфракрасной сушки при температуре 50 °С в течение 6 часов, при этом содержание сырого протеина в биомассе личинок после обработки было 53,4 %.

3. Выявлено, что культивирование личинок на субстрате с вышеуказанной концентрацией селена и кобальта способствовало увеличению содержания сырого протеина в их биомассе на 3,72% по отношению к контролю, и составило 61,72%. При оценке аминокислотного профиля личинок, выращенных на субстрате с добавлением Se 15 мг/ кг + Co 15 мг/ кг, максимальное количество лизина, фенилаланина, лейцина+изолейцина, тирозина было достигнуто через 48 часов, а гистидина, валина, треонина, серина через 72 часа культивирования.

4. Разработан способ получения хитозана из пупариев *M. domestica* со степенью деацетилирования 88-95%, содержанием протеинов менее 0,005% и влажностью менее 5%. Выход хитозана составил 70-80 %.

5. Установлено, что использование в кормлении цыплят – бройлеров кросса «Кобб 500»

альтернативного кормового белка из личинок *M. domestica* в количестве 10% к основному рациону способствует улучшению физиологических и продуктивных показателей цыплят. Так, отмечали увеличение общего белка крови у цыплят 2 группы на 10,64% и на 25,52% по отношению к контролю и 3 группе соответственно; снижение количества стафилококков и увеличение лактобактерий в кишечнике птиц, что свидетельствовало об улучшении микробиоценоза кишечника. Наряду с этим, регистрировали прирост массы тела цыплят 2 группы. На 24 сутки данный показатель был больше в 1,54 и 1,55 раза по сравнению с контролем и 3 группой соответственно. Кроме того, химический анализ мяса показал увеличение количества белка и золы в мясе цыплят второй группы.

6. Доказана экономическая эффективность от использования альтернативного кормового белка в кормлении бройлеров, в том числе отмечено снижение себестоимости на 46%, рост маржинального дохода на 149 % и увеличение уровня рентабельности на 110 %.

### **Практические предложения**

1. Для получения альтернативного кормового белка рекомендуется выращивать биомассу личинок *M. domestica* на субстрате, обогащенном микроэлементами селеном и кобальтом в количестве 15 мг/кг.
2. Для обработки личинок использовать инфракрасную сушку (режим: 50 °С). Длительность обработки 6 часов.
3. При кормлении цыплят – бройлеров кросса «Кобб 500» в добавление к основному рациону использовать 10% кормового белка из биомассы личинок *M. domestica*.

### **Перспективы дальнейшей разработки темы**

Настоящее исследование может явиться основой для использования кормовой муки из биомассы личинок *M. domestica* в животноводстве, как перспективного источника кормового белка для сельскохозяйственных животных.

### **СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ**

*В издании из международной базы данных*

1. Kovtunova (Sarycheva), A.S. Dynamics of amino acid profile of *Musca domestica* Larva during cultivation on substrate enriched with microelements / A.S. Kovtunova (Sarycheva), O.S. Larionova, A.V. Bannikova, Y.B. Drevko, E.A. Faust // Proceedings of the National Academy of Sciences, India Section B: Biological Sciences. – 2017. – № 8 – С.1 – 8.

*Патенты*

2. Пат. 2615636 Российская Федерация. МПК С08В37/08. Способ получения хитозана / О.С. Ларионова, Я.Б. Древко, А.В. Банникова, А.С. Ковтунова (Сарычева) [и др.];

заявитель и патентообладатель ФГБОУ ВО Саратовский ГАУ. – № 2016110254; заявл. 21.03.2016; опубл. 06.04.2017; бюл.2.

3. Пат. 2671165 Российская Федерация. МПК А23К10/20. Способ получения биомассы личинок *Musca domestica* для получения кормовой муки/ О.С. Ларионова, Е.А. Фауст, Я.Б. Древко, А.С. Садовская (Сарычева) [и др.]; заявитель и патентообладатель ФГБОУ ВО Саратовский ГАУ. – № 2017137041; заявл. 23.10.2017; опубл. 29.10.2018; бюл.3.

*В материалах конференций, семинаров и в других изданиях*

4. Ковтунова (Сарычева), А.С. Биотехнологическая конверсия отходов животноводства в решении проблемы дефицита кормового белка / А.С. Ковтунова (Сарычева), О.С. Ларионова // Биотехнология: реальность и перспективы: материалы Международной научно-практической конференции / под ред. Б.И. Древко, Л.В. Карпуниной, А.А. Щербакова. – Саратов: ИЦ «Наука», 2014. – С. 31-34.
5. Ковтунова (Сарычева), А.С. Кормовой белок, полученный путем биоконверсии отходов животноводства / А.С. Ковтунова (Сарычева), Д.Р. Зяйнитдинов, Д.В. Мендубаев, Е.В. Анিকেев // Материалы Международной научно-практической конференции «Наука, образование, общество: актуальные вопросы и перспективы развития»: сборник научных трудов, Ч.1. М.: «АР-Консалт», 2015. – С. 16 – 17.
6. Ковтунова (Сарычева), А.С. Биотехнология получения и перспектива использования альтернативного кормового белка / А.С. Ковтунова (Сарычева), Я.Б. Древко, Д.В. Мендубаев, Е.В. Анিকেев, О.С. Ларионова, Е.А. Фауст // Актуальная биотехнология. – 2015. – № 3 (14). – С. 102 – 104.
7. Ковтунова (Сарычева), А.С. Оптимизация параметров микроклимата для культивирования личинок *Musca domestica* L. / А.С. Ковтунова (Сарычева), Е.А. Фауст, М.А. Егоров, Ю.С. Кармеева // Молодые ученые в решении актуальных проблем науки: материалы Международной научно-практической конференции молодых ученых и специалистов – Троицк: ЮУрГАУ – Секция 2: Инновационные подходы к повышению качества продукции АПК. – 2015. – С. 296-298.
8. Ковтунова (Сарычева), А.С. Биоэкономика – перспективный вектор создания устойчивой кормовой базы для животноводства / А.С. Ковтунова (Сарычева), О.С. Ларионова, Н.Н. Крамарь // Материалы Международного социально – экономического научного форума. – Саратов, 2016. – С. 56-57.
9. Ковтунова (Сарычева), А.С. Влияние селена и кобальта на содержание сырого протеина и аминокислотный состав личинок *Musca domestica* / А. С. Ковтунова (Сарычева), О.С. Ларионова, М.С. Джаналиева // Актуальные проблемы ветеринарной медицины,

пищевых и биотехнологий: материалы Международной научно – практической конференции. – Саратов, 2016. – С. 119-123.

10. Ковтунова (Сарычева), А.С. Биоэкономика и роль новых технологий в получении кормового белка / А. С. Ковтунова (Сарычева), Л.С. Крылова, О.С. Ларионова, О.А. Миргородская // Актуальные проблемы ветеринарной медицины, пищевых и биотехнологий: материалы Международной научно – практической конференции. – Саратов, 2016. – С. 361-364.
11. Ковтунова (Сарычева), А.С. Получение кормового белка с улучшенным аминокислотным составом и низкой себестоимостью / А.С. Ковтунова (Сарычева), О.С. Ларионова // Материалы Международного молодежного социально – экономического научного форума. – Саратов, 2017. – С.101-103.
12. Ковтунова (Сарычева), А.С. Влияние селена и кобальта на содержание сырого протеина в биомассе и муке из личинок *Musca domestica* / А.С. Ковтунова (Сарычева), Е.А. Фауст, Я.Б. Древко, С.Н. Ванюшкина //Достижения науки и техники АПК. – 2018. – Т. 32, № 6. – С. 69-71.