

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(11) **044885**(13) **B1**(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ**

(45) Дата публикации и выдачи патента
2023.10.09

(21) Номер заявки
202091614

(22) Дата подачи заявки
2020.06.15

(51) Int. Cl. **A23K 10/16** (2016.01)
C12N 1/20 (2006.01)
C12R 1/01 (2006.01)
C12R 1/22 (2006.01)

(54) **БЕЛКОВАЯ КОРМОВАЯ ДОБАВКА ДЛЯ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ ЖИВОТНЫХ И РЫБ**

(31) **2019123037**

(32) **2019.07.22**

(33) **RU**

(43) **2021.05.31**

(86) **PCT/RU2020/050121**

(87) **WO 2021/015648 2021.01.28**

(71)(73) Заявитель и патентовладелец:
ООО "ГИПРОБИОСИНТЕЗ" (RU)

(72) Изобретатель:
**Бабусенко Елена Сергеевна, Быков
Валерий Алексеевич, Куликова
Наталья Леонидовна, Лалова
Маргарита Витальевна, Левитин
Леонид Евгеньевич, Сафонов
Александр Иванович (RU)**

(74) Представитель:
Черняев М.А. (RU)

(56) **FR-A1-2311091
RU-C1-2613365
RU-C1-2687135
RU-C1-2687136
RU-C1-2687137
RU-C1-2031950
GB-A-2422766**

ЛЮБИНСКАЯ Т.В. и др. Получение кормового белка из биогаза полигона ТБО. ВЕСТНИК РУДН, серия Экология и безопасность жизнедеятельности, 2013, № 2, с. 100-104, весь текст

BOTHE H. et al. Heterotrophic bacteria growing in association with *Methylococcus capsulatus* (Bath) in a single cell protein production process. APPLIED MICROBIOLOGY AND BIOTECHNOLOGY, 2002, v. 59, p. 33-39, doi:10.1007/s00253-002-0964-1, весь текст

(57) Изобретение относится к белковой кормовой добавке для сельскохозяйственных животных, птицы и культивируемых рыб и предназначено для использования в животноводстве и рыбоводстве при выращивании сельскохозяйственных животных, птицы и культивируемых рыб. Техническим результатом, полученным от использования предлагаемой кормовой добавки, является создание эффективной технологии получения добавки, улучшенные эксплуатационные свойства добавки за счет повышения продуктивности сельскохозяйственных животных, птицы и культивируемых рыб. Технический результат достигается за счет использования белковой кормовой добавки для сельскохозяйственных животных, птицы и культивируемых рыб, содержащей штамм метанооксиляющих бактерий *Methylococcus capsulatus* ГБС-15 ВКПМ В-12549 и смесь штаммов гетеротрофных бактерий *Cupriavidus gilardii* GBS-15-1 VKM В-3265D, *Stenotrophomonas acidaminiphila* GBS-15-2 VKM В-3264D и *Klebsiella pneumonia* 1-17 "ГКПМ-ОБОЛЕНСК" при следующем соотношении компонентов, мас. %: штамм метанооксиляющих бактерий *Methylococcus capsulatus* ГБС-15 ВКПМ В-12549 85-94; упомянутая смесь штаммов 6-15.

B1**044885****044885****B1**

Изобретение предназначено для использования в животноводстве и рыбоводстве, в частности относится к кормовым биодобавкам для кормов при выращивании сельскохозяйственных животных и рыб в искусственных водоемах для повышения продуктивности, естественной резистентности.

В настоящее время наблюдается снижение качества кормов, включая их энергетическую и протеиновую питательность. Практически все виды используемых кормов относятся к группе низкопротеиновых, поэтому обеспеченность белком (в частности, для КРС) не превышает 85 г, вместо 108 г по нормам, что является одной из важнейших причин низкой продуктивности животных, повышенного расходов кормов на единицу продукции и ее высокой себестоимости.

Внимание исследователей было обращено на использование растительных ингредиентов, в частности на источники растительного белка из-за их доступности и низкой цены. Основным источником белкового продукта является соевый шрот. Однако природные условия нашей страны не подходят для выращивания сои в достаточных количествах. Рыбная мука традиционно является основным источником белка для кормления рыб. Тем не менее, цена на рыбную муку неуклонно растет, а объем производства аквакультуры увеличивается.

Специалистам приходится искать другие способы производства кормового белка и альтернативные источники их получения.

Введение в смесь белковой кормовой добавки позволяет оптимизировать питательный состав кормов, улучшить их биодоступность и воздействие на скорость развития животных и рыб, обеспечивать профилактическое действие, и т.п.

В результате проведенного патентного поиска были отобраны следующие источники информации.

Так, разработаны технологии производства кормового белка на основе отходов спиртовой (послепиртовой барды) и мукомольной (отрубей, муки) промышленности и смеси барды с отходами зернового сырья (патент РФ № 2159287; патент РФ № 2140449; авторское свидетельство СССР № 1595900; авторское свидетельство СССР № 1571061; авторское свидетельство СССР № 1532580; авторское свидетельство СССР № 1507787; патент РФ № 2054881; № 2042713 и др.). В качестве культур-продуцентов в перечисленных изобретениях используют дрожжеподобные несовершенные грибы рода *Candida*. Недостатком известных штаммов микроорганизмов является отсутствие способности к активному росту в условиях длительного нестерильного процесса культивирования. Кроме того, использование дрожжей рода *Candida* в качестве культуры продуцента требует усложнения технологии производства путем обязательного введения стадии термообработки получаемой кормовой биомассы для гарантированного обеспечения отсутствия живых клеток в готовом продукте.

Известны различные штаммы бактерий, являющиеся продуцентами белка (патенты РФ №№ 2244000, 2390554, 2244001). Общим недостатком данных штаммов является недостаточно высокая концентрация биомассы, накапливаемая в присутствии 2,5% молочной кислоты, а следовательно, недостаточное количество белка, которое могло бы образоваться культурой.

Одним из перспективных путей получения полноценного белкового кормового продукта являются метанотрофные бактерии, продуцирующие белок. Метанотрофные бактерии в подходящих условиях активно перерабатывают природный газ, быстро размножаются и наращивают свою биомассу, богатую ценным белком, витаминами и иными биологически активными веществами.

Использование метана для получения белка имеет ряд преимуществ по сравнению с жидкими углеводородами: большие запасы природного газа, хорошая его транспортабельность, возможность получения готового продукта без дополнительной очистки от субстрата.

Учитывая, что в России большие газовые запасы недр, по некоторым данным, они составляют до 40% мировых. Внедрение микробиологического производства белка на российских предприятиях сулит не только экономический эффект, но и способно обеспечить продовольственную безопасность страны.

Известны различные штаммы бактерий, продуцирующие кормовой белок, относящиеся к различным видам метанооксиляющих бактерий (метанотрофы), например, например штаммы рода *Pseudomonas* *methanica*, *Methylococcus capsulatus* ВКМ В-2116, *Methylocystis parvus* ВКМ В-2129, *Methylosinus sporium* ВКМ В-2123, *Methylosinus trichosporum* ВКМ В-2117, *Methylobacter acidophilus*, *Methylomonas rubra* ВСБ-90, *Methylococcus* sp. ЧМ-9, *Methylococcus capsulatus* ВСБ-874, *Methylococcus minimus*, *Methylomonas methanica*, *Methylomonas agile*.

Они являются продуктами микробиального синтеза, получаемыми в результате культивирования метанооксиляющих бактерий на природном газе. Эти штаммы характеризуются различными скоростями роста и выходом биомассы.

Известен штамм *Methylococcus capsulatus* ВСБ-874 - продуцент биомассы. Хранится в музее культур института "ВНИИгенетика" под коллекционным номером ЦМПМ В-1743 (авт. свид. СССР № 770200). Используется в качестве источника углерода метан, как чистый, так и в составе природного газа, и метанол. Продукт с использованием данного штамма выпускается под торговой маркой ГАПРИН. Недостатками данного штамма являются недостаточно высокая продуктивность (8-10 г/л ч), невысокое содержание сырого протеина в биомассе (не более 70%), нестабильный выход биомассы (30-60 г/л).

Известно изобретение (РФ 2687137), которое относится к биотехнологии и может быть использовано для получения микробной белковой массы для кормления животных. Штамм гетеротрофных бактерий

Klebsiella pneumonia 1-17, способный использовать продукты соокисления гомологов метана, присутствующих в природном газе, депонирован в Государственной коллекции патогенных микроорганизмов и клеточных культур "ГКПМ - ОБОЛЕНСК" под регистрационным номером В-8465. Данный штамм обеспечивает повышение продуктивности метанооксиляющих бактерий.

Известно изобретение, которое относится к биотехнологии и может быть использовано для получения микробной белковой массы для кормления животных. Штамм гетеротрофных бактерий *Cupriavidus gilardii* GBS-15-1, способный использовать продукты соокисления гомологов метана, присутствующих в природном газе, депонирован во Всероссийской коллекции микроорганизмов Института биохимии и физиологии микроорганизмов Г.К. Скрыбина РАН под регистрационным номером VKM В-3265D. Данный штамм обеспечивает повышение продуктивности метанооксиляющих бактерий (РФ 2687135).

Известно изобретение, которое относится к микробиологической промышленности. Штамм гетеротрофных бактерий *Stenotrophomonas acidaminiphila* GBS-15-2 обладает способностью использовать продукты соокисления гомологов метана, присутствующие в природном газе. Штамм гетеротрофных бактерий *Stenotrophomonas acidaminiphila* депонирован во Всероссийской коллекции микроорганизмов при Институте биохимии и физиологии микроорганизмов Г.К. Скрыбина РАН под регистрационным номером VKM В-3264D. Штамм гетеротрофных бактерий *Stenotrophomonas acidaminiphila* VKM В-3264D может быть использован для получения микробной белковой массы (РФ № 2687136).

Наиболее близким из аналогов по технической сущности и заявляемому эффекту является штамм метанооксиляющих бактерий *Methylococcus capsulatus* ГБС-15. Область применения штамма - производство белково-витаминных комплексов для балансирования кормов с/х животных; депонирован во Всероссийской Коллекции Промышленных Микроорганизмов под номером ВКПМ В-12549. Штамм обеспечивает накопление биомассы до 32 г/л. (РФ № 2613365). Содержание сырого протеина в биомассе не менее 79%.

Технической задачей является расширение спектра используемых белковых кормовых добавок на основе метанооксиляющих бактерий *Methylococcus capsulatus* для сельскохозяйственных животных и рыб, выращиваемых в искусственных водоемах, обладающих более высоким технологическим потенциалом и экономически выгодного промышленного проведения процесса, высоким содержанием белка.

Техническим результатом, полученным от использования предлагаемой кормовой добавки является создание эффективной технологии получения добавки, улучшенные эксплуатационные свойства добавки за счет повышения продуктивности сельскохозяйственных животных и рыб.

Технический результат достигался за счет использования белковой кормовой добавки для сельскохозяйственных животных, птицы и культивируемых рыб, характеризующейся тем, что она содержит штамм метанооксиляющих бактерий *Methylococcus capsulatus* ГБС-15 ВКПМ В-12549 и смесь штаммов гетеротрофных бактерий *Cupriavidus gilardii* GBS-15-1 VKM В-3265D, *Stenotrophomonas acidaminiphila* GBS-15-2 VKM В-3264D и *Klebsiella pneumonia* 1-17 "ГКПМ-ОБОЛЕНСК" при следующем соотношении компонентов, мас. %:

штамм метанооксиляющих бактерий *Methylococcus capsulatus* ГБС-15 ВКПМ В-12549 85-94;
упомянутая смесь штаммов 6-15.

Скармливание рациона с белковой кормовой добавкой, содержащей предлагаемую смесь штаммов, способствует увеличению живой массы за счет прироста мышечной ткани. Качество мяса улучшается за счет уменьшения содержания жира в мышечной ткани, уменьшения прослойки подкожного жира и увеличения площади мышечного глазка.

Изобретение позволит увеличить продуктивность животных и рыб, их выживаемость экологическую безопасность мяса, получить мясо с функциональными свойствами.

Заявленное соотношение компонентов белковой кормовой добавки обеспечивает создание легкоусвояемой высокобелковой добавки с содержанием гетеротрофных бактерий. Белковую кормовую добавку для сельскохозяйственных животных и рыб получают путем смешивания компонентов согласно заявленному соотношению и затем при необходимости гранулируют или проводят экструзию.

В табл. 1 представлены рецептуры предлагаемых белковых добавок. Как показали проведенные эксперименты, использование предлагаемой белковой кормовой добавки существенно в смесях кормовых добавок позволяет оптимизировать питательный состав кормов, улучшить их биодоступность. Кроме того, обеспечивается потребность рыбы, животных и птицы в необходимых компонентах питания, снизить затраты корма на единицу продукции.

Продуцентом белковой кормовой добавки является метанотроф *Methylococcus capsulatus* ГБС-15. Штамм выделен в процессе длительной многоступенчатой селекции путем культивирования в условиях аэрации и перемешивания на жидкой минеральной среде в атмосфере природного газа. Штамм *Methylococcus capsulatus* ГБС-15 культивируется в составе ассоциативной культуры, включающей гетеротрофные ассоцианты *Cupriavidus gilardii*, *Stenotrophomonas acidaminiphila*, *Klebsiella pneumonia*, которые утилизируют продукты соокисления гомологов метана, присутствующие в природном газе, и продукты метаболизма основного штамма *Methylococcus capsulatus* ГБС-15.

Полученная белковая кормовая добавка представляет собой высушенную инактивированную биомассу ассоциации метанооксиляющих и гетеротрофных бактерий.

Белковая кормовая добавка в виде порошка или гранул дозируется в необходимом количестве, которое определяется нормами использования при приготовлении кормовых смесей. Белковая кормовая добавка обладает высокой питательной ценностью и безвредностью для рыб, животных и птицы.

Штамм *Methylococcus capsulatus* ГБС-15 и его ассоцианты непатогенны, нетоксичны и безвредны.

Количество белка в белковой кормовой добавке эквивалентно белкам животного происхождения (рыбной и мясо-костной муке). Это позволяет широко использовать белковую кормовую добавку в качестве заменителя рыбной муки и соевого шрота в составе кормовых рационов.

Биологическая ценность белковой кормовой добавки по химическому Скору составляет 65-70%. Лимитирующая аминокислота - метионин. Относительная биологическая ценность к казеину на тест-организме тетрахименапириформис - 65-75%.

Исследования питательных свойств белковой кормовой добавки проводились на животных, для которых предназначен продукт: свиньи, птица, телята, овцы, рыба.

Кормление животных осуществлялось по принятым нормам. В качестве источников протеина в контрольные рационы включали бобовые шроты. Количество заявляемой белковой кормовой добавки и контрольной добавки включали 20% от суточной нормы перевариваемого протеина рациона.

Сущность изобретения иллюстрируется следующими примерами.

В качестве контрольного корма во всех примерах использовали ГАПРИН.

Пример 1. Испытания на рыбах.

Испытания кормовых добавок проводили на сеголетках карпа массой 38-45 г в лабораторных условиях в проточных аквариумах. Сеголетков карпа по 20 шт. содержали в 70 л проточных аквариумах при температуре воды в ходе всего опыта в пределах 18-21°C, и с содержанием кислорода от 6,8 до 9 мг/л. Курс скармливания кормовой добавки составил 24 дня.

По завершении курса кормления рыб на всех этапах эксперимента проводили сравнительную оценку их физиологического состояния по гематологическим параметрам. Все расчеты абсолютного, относительного и среднесуточного прироста средней массы проводили по общепринятым методам.

Результаты проведенных испытаний смотри табл. 2.

Белковую кормовую добавку можно вводить в корм для рыб без нарушения аминокислотного баланса корма. Предлагаемая смесь штаммов имеет высокий уровень продуктивности, что способствует увеличению скорости потребления пищи рыбой и скорости увеличения веса.

Исследования кормов с добавлением белковой кормовой добавки на рыбах разного возраста показали, что включение этого компонента в рацион стимулирует темп роста рыб при снижении кормовых затрат, не нарушая физиологический статус рыбы. Выживаемость личинок также связана с рационом питания. Наличие белковой кормовой добавки в экспериментальных кормах существенно повышает выживаемость карпа, до 93% против 63% на контрольном корме.

Таким образом, при соответствующем балансировании питательных веществ в корме рыб, белковая кормовая добавка показывает результаты сходные с другими высокобелковыми компонентами.

Пример 2. Испытания на свиньях.

Испытания биопрепарата в рационах свиней проведены в различные возрастные периоды и на различных половозрастных группах:

Кормление животных осуществлялось по принятым нормам. В качестве источников протеина в контрольные рационы включали соевый шрот.

В опытных группах включали биодобавку в количестве до 20% от суточной нормы перевариваемого протеина рациона. Животных взвешивали индивидуально перед постановкой на опыт, в конце каждого периода выращивания. Физиологическое состояние и состояние здоровья животных на протяжении всего эксперимента было нормальным. Каких-либо отрицательных эффектов на протяжении всего эксперимента не выявлено. За весь период испытаний не отмечено различий в состоянии здоровья животных, потребления кормов и величине среднесуточных приростов у опытных и контрольных животных.

Уровень белковой кормовой добавки в опытной группе составлял 20% от суточной нормы перевариваемого протеина. Питательность рационов соответствовала общепринятым нормам для соответствующего возраста животных и была идентична для контрольной и опытной групп.

На протяжении всего эксперимента не отмечено каких-либо отклонений в физиологическом состоянии и состоянии здоровья животных.

Использование белковой кормовой добавки в составе комбикормов для свиней способствовало повышению прироста веса в сравнении с контролем на 12%, не вызвало нарушений в обмене веществ, способствовало высокой сохранности молодняка на 7,5%, не отмечено случаев повышения заболеваемости свиней в опытных группах.

Результаты исследований указывают на эффективность и безвредность использования белковой кормовой добавки в рационах растущих и откармливаемых свиней.

Пример 3. Испытание на птице.

Исследования продуктивности проводили на цыплятах бройлерах. Птица опытной группы получала корм, в составе которого было введено 5% белковой кормовой добавки по массе рациона взамен 50% протеина животного происхождения. Куры контрольной группы получали полнорационный стандартный комбикорм.

Основные физиологические показатели в контрольной и опытной группах в результате эксперимента составили: сохранность кур в опытной группе 99,2%, в контрольной группе 98,8%. Интенсивность яйценоскости в опытной группе 79,4%, в контрольной группе 72,4%.

Таблица 1

Компоненты/ штаммы, масс %	1	2	3	4
<i>Methylococcus capsulatus</i> ГБС-15	94	85	94	88
<i>Stenotrophomonas acidaminiphila</i> GBS -15-2	2	5	2	4
<i>Cupriavidus gilardii</i> GBS -15-1	2	5	2	4
<i>Klebsiella pneumonia</i> 1-17	2	5	2	4

Таблица 2

показатели	Опытный корм (гаприн)	Контрольный корм
Начальная масса, мг	2.9	2.9
Конечная масса(средняя по двум лоткам), мг	150.7	82.5
Конечная масса, % к контролю	182.7	100
Выживаемость личинок (в среднем по двум лоткам)	88.7	62.5
Выживаемость % к контролю	146.3	100
Общая ихтиомасса (средняя по двум лоткам), г	7093	2655
Общая ихтиомасса, % к контролю	267.2	100

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

Белковая кормовая добавка для сельскохозяйственных животных, птицы и культивируемых рыб, характеризующаяся тем, что она содержит штамм метанооксилирующих бактерий *Methylococcus capsulatus* ГБС-15 ВКПМ В-12549 и смесь штаммов гетеротрофных бактерий *Cupriavidus gilardii* GBS-15-1 VKM В-3265D, *Stenotrophomonas acidaminiphila* GBS-15-2 VKM В-3264D и *Klebsiella pneumonia* 1-17 "ГКПМ-ОБОЛЕНСК" при следующем соотношении компонентов, мас. %: штамм метанооксилирующих бактерий *Methylococcus capsulatus* ГБС-15 ВКПМ В-12549 85-94; упомянутая смесь штаммов 6-15.

