

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(52) СПК

A23K 10/16 (2025.08)

(21)(22) Заявка: 2025104954, 04.03.2025

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
04.03.2025Дата регистрации:
12.11.2025

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 04.03.2025

(45) Опубликовано: 12.11.2025 Бюл. № 32

Адрес для переписки:

308015, г. Белгород, ул. Победы, 85, ФГАОУ
ВО НИУ "БелГУ", Крылова Анна Сергеевна

(72) Автор(ы):

Шайдорова Галина Михайловна (RU),
Круть Ульяна Александровна (RU),
Иванова Софья Михайловна (RU),
Селезнев Александр Олегович (RU),
Ляховченко Никита Сергеевич (RU),
Потапова Марина Сергеевна (RU),
Перепелица Мария Михайловна (RU)

(73) Патентообладатель(и):

Федеральное государственное автономное
образовательное учреждение высшего
образования "Белгородский государственный
национальный исследовательский
университет" (НИУ "БелГУ") (RU)(56) Список документов, цитированных в отчете
о поиске: RU 2782383 C1, 26.10.2022. RU
2552872 C1, 10.06.2015. RU 2433738 C1,
20.11.2011. CN 105309777 A, 10.02.2016.

(54) КОРМОВАЯ ДОБАВКА ДЛЯ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ ЖИВОТНЫХ И ПТИЦ

(57) Реферат:

Кормовая добавка для сельскохозяйственных животных и птиц относится к кормовой промышленности, и может быть использована для профилактики микотоксикозов и желудочно-кишечных заболеваний сельскохозяйственных животных и птиц. Кормовая добавка содержит пробиотический компонент, в качестве которого используют штамм *Bacillus subtilis* ВКМ В3728D с биомассой КОЕ 10^6 - 10^9 и сорбент. В качестве сорбента используют измельченный стерильный бентонитовый материал, содержащий

монтмориллонит натриевой формы, предварительно растёртый в пасту с водным раствором Трилона Б концентрацией 0,25мг на литр, при следующем соотношении ингредиентов, мас. %: штамм *Bacillus subtilis* ВКМ В3728D 78; бентонитовый материал 20; раствор Трилона Б - 2. Технический результат - расширение арсенала кормовых добавок, обеспечивающих профилактику микотоксикозов у сельскохозяйственных животных и птицы. 2 табл., 3 пр.



FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(12) **ABSTRACT OF INVENTION**

(52) CPC
A23K 10/16 (2025.08)

(21)(22) Application: **2025104954, 04.03.2025**

(24) Effective date for property rights:
04.03.2025

Registration date:
12.11.2025

Priority:

(22) Date of filing: **04.03.2025**

(45) Date of publication: **12.11.2025** Bull. № 32

Mail address:
**308015, g. Belgorod, ul. Pobedy, 85, FGAOU VO
NIU "BelGU", Krylova Anna Sergeevna**

(72) Inventor(s):

**Shaidorova Galina Mikhailovna (RU),
Krut Uliana Aleksandrovna (RU),
Ivanova Sofia Mikhailovna (RU),
Seleznev Aleksandr Olegovich (RU),
Liakhovchenko Nikita Sergeevich (RU),
Potapova Marina Sergeevna (RU),
Perepelitsa Mariia Mikhailovna (RU)**

(73) Proprietor(s):

**federalnoe gosudarstvennoe avtonomnoe
obrazovatelnoe uchrezhdenie vysshego
obrazovaniia "Belgorodskii gosudarstvennyi
natsionalnyi issledovatel'skii universitet" (NIU
"BelGU") (RU)**

(54) **FEED ADDITIVE FOR FARM ANIMALS AND POULTRY**

(57) Abstract:

FIELD: feed additive.

SUBSTANCE: feed additive for farm animals and poultry belongs to the feed industry and can be used to prevent mycotoxicosis and gastrointestinal diseases in farm animals and poultry. The feed additive contains a probiotic component, which is a strain of *Bacillus subtilis* BKM B3728D with a biomass of 106 - 109 CFU and a sorbent. The sorbent used is crushed sterile bentonite material containing sodium montmorillonite,

pre-ground into a paste with an aqueous solution of Trilon B at a concentration of 0.25 mg per litre, with the following ratio of ingredients, wt. %: *Bacillus subtilis* strain BKM B3728D 78; bentonite material 20; Trilon B solution - 2.

EFFECT: expansion of the arsenal of feed additives that prevent mycotoxicosis in farm animals and poultry.
1 cl, 2 tbl, 3 ex

RU 2 850 655 C1

RU 2 850 655 C1

Изобретение относится к кормовой промышленности, а именно к составу кормовой добавки для сельскохозяйственных животных и птиц.

Известно, что сочетание пробиотиков и пребиотиков, обеспечивает синергетический эффект, называемый синбиотическим, который укрепляет микрофлору кишечника и улучшает пищеварение, что позволяет широко использовать их в качестве биологически активных добавок и компонентов функционального питания. В составе таких препаратов могут присутствовать различные штаммы бактерий, например, представители родов *Lactobacillus* и *Bifidobacterium*, а также дополнительные биологически активные вещества, такие как фруктоолигосахариды, пектины и аминокислоты.

В настоящее время наблюдается значительный интерес к разработке синбиотических кормовых добавок для сельскохозяйственных птиц и животных, способных обеспечить комплексное улучшение пищеварения, нормализацию работы кишечника, купирование воспалительных процессов и укрепление иммунитета. Такие добавки особенно актуальны при использовании кормов низкого качества, часто загрязнённых микотоксинами, что приводит к снижению продуктивности животных и значительным экономическим потерям.

Известен способ профилактики микотоксикозов и желудочно-кишечных заболеваний животных (патент RU №2491942, публ. 10.09.2013), в котором описывается способ профилактики микотоксикозов и желудочно-кишечных заболеваний у животных через введение микробного препарата на основе штамма *Bacillus subtilis*-93. Препарат вводится в дозировке 6-10 мл (с содержанием 1 млрд клеток/мл) в течение 10 дней, что способствует снижению заболеваемости и улучшению состояния ЖКТ. Штамм *B.subtilis*-93 получают путем размножения в питательных средах, принятых в производстве пробиотических препаратов.

Недостаток: отсутствие в добавке адсорбентов микотоксинов снижает эффективность способа при высоком уровне загрязнения кормов, так как пробиотическое действие штамма не обеспечивает прямой нейтрализации токсинов.

Также, известна кормовая добавка "красная глина" для профилактики микотоксикозов у сельскохозяйственной птицы (патент RU №2731893, публ. 09.09.2020). Изобретение предлагает способ применения кормовой добавки на основе природного минерала «красная глина». Добавка вводится в количестве 3-5% от массы корма по циклической схеме (10 дней с добавкой, затем 10 дней без нее). «Красная глина» действует как адсорбент, снижая биодоступность микотоксинов. Кормовая добавка «красная глина» - минеральный продукт, полученный из отходов производства кирпича из обожженной глины (код ФККО:34321000000), Агачаульского месторождения, Республики Дагестан.

Недостаток: данная добавка не обеспечивает получения дополнительного пробиотического или иммуномодулирующего эффекта, поскольку минеральный продукт, полученный из отходов производства кирпича из обожженной глины сам по себе не способствует восстановлению и поддержанию нормальной микрофлоры кишечника.

Известно средство для профилактики и лечения микотоксикозов у сельскохозяйственной птицы (патент RU №2207122, публ. 27.06.2003), содержащее смесь активного угля и таких неорганических солей, как селенит натрия, сульфаты меди и магния, хлорид кобальта, бикарбонат натрия. Комплексное действие достигается за счет адсорбционных свойств активированного угля и биологически активного влияния неорганических компонентов.

Недостаток: возможность накопления тяжелых металлов при длительном применении или превышении дозировки указанного средства, что может привести к токсическим

эффектам.

Общий недостаток вышеуказанных технических решений заключается в том, что известные добавки не обеспечивают сочетания одновременно пробиотических и сорбционных свойств добавок.

- 5 В этой связи возникает необходимость в разработке нового состава, объединяющего пробиотический эффект с адсорбционными свойствами, что позволит эффективно нейтрализовать микотоксины в корме и одновременно поддерживать здоровую кишечную микрофлору благодаря сорбционным свойствам.

- 10 Прототипом данного изобретения является сорбционная кормовая добавка для сельскохозяйственных животных и птицы (патент RU 2782383 C1 публ. 26.10.2022), включающая смесь пробиотического компонента и сорбента. В качестве пробиотического компонента используют живую массу микроорганизмов *Bacillus subtilis* в количестве 70-85 мас%, а остальное - сорбент. В качестве сорбента используют монтмориллонит содержащую глину, которую предварительно выдерживают 1,5 часа
15 при 180°C.

Недостаток: неравномерное распределение бактерий по поверхности глины и, следовательно, низкая эффективность биотрансформации микотоксинов, что обусловлено образованием комков монтмориллонитовой глины при перемешивании состава за счёт её плохой смачиваемости.

- 20 Задача изобретения - расширение арсенала кормовых добавок, обеспечивающих профилактику микотоксикозов у сельскохозяйственных животных и птицы.

- Технический результат - достижение поставленной задачи за счёт разработки синбиотической добавки с высокой эффективностью нейтрализации микотоксинов в кормах для сельскохозяйственных животных и птиц, и повышенной сорбционной
25 способностью, обусловленной предложенным составом.

Заявленная кормовая добавка, содержащая пробиотический компонент и сорбент, включает следующие новые признаки:

в качестве пробиотического компонента используют штамм *Bacillus subtilis* ВКМ В3728D с биомассой КОЕ 106 - 109;

- 30 в качестве сорбента используют измельченный стерильный бентонитовый материал, содержащий монтмориллонит натриевой формы, предварительно растёртый в пасту с водным раствором Трилона Б концентрацией 0,25мг на литр, при следующем соотношении ингредиентов, мас.% :

35	штамм <i>Bacillus subtilis</i> ВКМ В3728D	78
	бентонитовый материал	20
	раствор Трилона Б	2

- Удельная поверхность бентонитового материала, содержащего монтмориллонит натриевой формы составляет 60 м²/г, удельный объём пор - 0,083 см³/г, а средний размер
40 пор равен 55,5 Å. Эти параметры свидетельствуют о развитой пористой структуре, способствующей эффективной адсорбции. Особенностью заявленного состава является введение в сорбент Трилона Б, который повышает смачиваемость сорбента и предотвращает образование комков. В результате увеличивается площадь соприкосновения между компонентами биокомпозиции и клетки штамма *Bacillus subtilis*
45 ВКМ В3728D равномерно распределяются по бентонитовому материалу, содержащему натриевую форму монтмориллонита. Кроме того, Трилон Б действует как эмульгатор и стабилизатор биокомпозиции. Он широко используется в пищевой промышленности как консервант и добавка Е385 при производстве консервов, что гарантирует его безопасность для сельскохозяйственных животных и птиц.

Также отличительной особенностью является использование штамма *Bacillus subtilis* ВКМ В3728D.

Штамм *Bacillus subtilis* ВКМ В3728D был выделен из почвы придорожной зоны села Кленовое в Прохоровском районе Белгородской области, зарегистрирован в коллекции «Федеральный исследовательский центр «Пушкинский научный центр биологических исследований Российской академии наук». Дата депонирования: 07.06.2023.

Культуральные и морфологические свойства штамма *Bacillus subtilis* ВКМ В3728D: Клетки *Bacillus subtilis* ВКМ В3728D имеют палочковидную форму и располагаются поодиночке или попарно. Колонии формируются на агаре с 3% пептоном на второй день инкубации при температуре 35°C. Они характеризуются белым цветом, блестящей поверхностью, непрозрачностью, широкими выпуклыми формами и неровными краями, которые со временем становятся более гладкими. Штамм способен образовывать споры и проявляет положительную реакцию на окраску по Грамму.

Физиолого-биохимические свойства *Bacillus subtilis* ВКМ В3728D. Штамм обладает протеолитической, целлюлолитической, липолитической, амилалитической активностью и активностью каталазы. Также штамм способен выделять аммиак и восстанавливать нитраты, что свидетельствует о его способности к фиксации азота и денитрификации. При этом он не проявляет активность лецитиназы и уреазы, не образует индол и сероводород. *Bacillus subtilis* ВКМ В3728D хорошо растет на средах с сахарозой, D-глюкозой, лактозой, D-фруктозой, цитратом натрия и ацетатом натрия, но не растет на средах с салициловой, сорбиновой, бензойной, винной кислотами и ацетатом свинца. Он является аэробным организмом. *Bacillus subtilis* ВКМ В3728D проявляет антагонистическую активность в отношении *Escherichia coli* O157:H7, *Aspergillus unguis* VKM F-1754 и бактерий рода *Ralstonia*.

Обработанный Трилоном Б сорбент в составе добавки гораздо эффективнее адсорбирует микотоксины, снижая их токсическое воздействие на организм, что создает более благоприятную среду для жизнедеятельности и активности *Bacillus subtilis* ВКМ В3728D. Это позволяет минимизировать негативное влияние микотоксинов, которые могут нарушать работу кишечника и подавлять активность полезных микроорганизмов. Следовательно, обеспечивает синергетический эффект, заключающийся в том, что сочетание пробиотика и сорбента в отношении адсорбции микотоксинов превышает сумму их индивидуальных действий. Тем самым указанный синергетический эффект, обеспечивает соответствие определению заявленной добавки как симбиотического продукта, в котором компоненты взаимодействуют для усиления пользы для здоровья.

Способ получения симбиотической кормовой добавки для животных осуществляют следующим образом.

Начинают процесс с подготовки культуры бактерий. Используют 12-часовую культуру *Bacillus subtilis* ВКМ В3728D, выращенную на среде LB, содержащей 1,5% пептона, 0,5% дрожжевого экстракта и 0,5% хлорида натрия, разбавленных дистиллированной водой. Полученную культуру вносят в ферментер, в котором находится питательная среда, содержащая масс%: сухой молочной сыворотки - 1,5 - 3, хлорида натрия - 0,06, дигидрофосфата калия - 0,06, карбоната натрия - 0,06, сульфата железа 7 водного - 0,006 и дистиллированной воды - остальное. Процесс ведут до момента, когда будет накоплена биомасса бактерий *Bacillus subtilis* ВКМ В3728D 10^6 - 10^8 колониеобразующих единиц.

Для подготовки сорбента стерильный бентонитовый материал, содержащий монтмориллонит натриевой формы, перемешивают с раствором, содержащим 0,25 мг Трилона Б на литр воды. Суспензию перемешивают до получения пастообразного

состояния, что предотвращает образование сухих комков и обеспечивает стабильное распределение минеральных частиц монтмориллонита.

На третьем этапе, когда в жидкой питательной среде накоплена биомасса бактерий *Bacillus subtilis* ВКМ В3728D 10^6 - 10^{10} колониеобразующих единиц, в неё по частям добавляют пасту с стерильным бентонитовым материалом, содержащим натриевую форму монтмориллонита, и водный раствор Трилона Б, концентрацией 0,25 мг на литр дистиллированной воды при следующем соотношении ингредиентов, масс% :

штамм <i>Bacillus subtilis</i> ВКМ В3728D	78
бентонитовый материал	20
раствор Трилона Б	2

Далее полученную биокомпозицию тщательно перемешивают после каждого добавления пасты из сорбента с Трилоном Б, со скоростью 50 об/мин до получения однородной массы, уделяя особое внимание отсутствию образования пены.

Затем следует этап культивирования бактерий на бентонитовом материале, содержащем натриевую форму монтмориллонита, для чего ёмкость с полученной биокомпозицией помещают в орбитальный шейкер, где перемешивают её при скорости 100 оборотов в минуту при температуре 36°C в течение 24 часов.

После завершения культивирования биокомпозицию разливают в стерильные стеклянные банки с закручивающимися крышками и подвергают лиофильной сушке. Сначала проводят предварительное замораживание при минус 40 °C в течение 24 часов, затем основная сушка - при минус 50 °C в течение 24 часов, после чего проводят остаточное высушивание при минус 20 °C до достижения конечной влажности не более 5%.

Использование Трилона Б в качестве стабилизатора дисперсии монтмориллонитовых частиц обеспечивает равномерное распределение бактериальных клеток по минеральной матрице. Благодаря этому бактерии *Bacillus subtilis* ВКМ В3728D равномерно прикрепляются к поверхности монтмориллонитовых частиц, что повышает эффективность подавления микотоксинов в корме. Бентонитовый материал, содержащий монтмориллонит натриевой формы, применяемый в качестве натурального сорбента, растёртый в пасту с раствором Трилона Б, расширяет возможность предложенной биокомпозиции в отношении нейтрализации микотоксинов и улучшения перистальтики желудочно-кишечного тракта.

Уникальность предлагаемого состава заключается также в использовании штамма *Bacillus subtilis* ВКМ В3728D, который продуцирует значительное количество биологически активных метаболитов. Эти метаболиты оказывают активное действие против фитопатогенных грибов, таких как *Aspergillus unguis*, и демонстрируют антагонистический эффект по отношению к *Escherichia coli*.

Таким образом, предложенная симбиотическая кормовая добавка для сельскохозяйственных животных и птиц является инновационным и актуальным решением, которое объединяет пробиотический эффект *Bacillus subtilis* ВКМ В3728D и сорбционные свойства бентонитового материала, содержащего монтмориллонит натриевой формы, обработанного раствором Трилона Б, что позволяет создать безопасный и эффективный продукт для повышения качества кормов и улучшения здоровья сельскохозяйственных животных и птиц.

Пример 1. Осуществление способа получения симбиотической кормовой добавки, содержащей 10^9 колониеобразующих единиц.

Берут 350 мл 12-часовой культуры *Bacillus subtilis* ВКМ В3728D, выращенной на

среде LB, содержащей 1,5% пептона, 0,5% дрожжевого экстракта и 0,5% хлорида натрия, разбавленных дистиллированной водой. Проводят накопление биомассы бактерий штамма *Bacillus subtilis* ВКМ В3728D методом глубинного культивирования в биореакторе на питательной среде следующего состава масс%: сухая молочная сыворотка 3, хлорид натрия 0,06, дигидрофосфат калия 0,06, карбонат натрия 0,06 и сульфат железа 7-водный 0,006, вода дистиллированная свежеприготовленная остальное. Параметры культивирования: Ph 7±0,15, поддерживают с помощью 20% растворов гидроксида натрия и/или соляной кислоты, концентрация растворенного кислорода 70±5%, температура 30°C. Период культивирования длится 36 часов. Полученную культуральную жидкость центрифугируют при 8000 об/мин в течение 15 минут, осадок ресуспендируют в 100 мл 0,9% раствора хлорида натрия. Получают биомассу штамма *Bacillus subtilis* ВКМ В3728D содержащего 10⁹ колониеобразующих единиц.

Для подготовки сорбента бентонитовый материал, содержащий монтмориллонит натриевой формы, предварительно измельчают до частиц размером не более 100 мкм, затем подвергают стерилизации в сухожаровом шкафу при 180°C в течение 1,5 часов. После стерилизации бентонитового материала, содержащего монтмориллонит натриевой формы, в него добавляют водный раствор Трилона Б концентрацией 0,25 мг на литр, перемешивают до пастообразного состояния, в виде однородной массы без сухих комков.

В биомассу штамма *Bacillus subtilis* ВКМ В3728D содержащего 10⁹ колониеобразующих единиц по частям добавляют сорбент в виде пасты с водным раствором Трилона Б концентрацией 0,25 мг на литр, при следующем соотношении ингредиентов, мас.% :

штамм <i>Bacillus subtilis</i> ВКМ В3728D	78
бентонитовый материал	20
раствор Трилона Б2,	Б2,

тщательно перемешивая после каждого добавления с помощью лабораторного миксера в течение 15 минут при скорости 50 об/мин, контролируя процесс, чтобы предотвратить образование пены.

Далее ёмкость с биокомпозицией ставят на орбитальный шейкер и перемешивают при 100 об/мин и температуре 36° С в течение 24 часов.

В стерильных условиях биокомпозицию разливают в предварительно простерилизованные стеклянные банки с закручивающимися крышками и подвергают лиофильной сушке. Лиофилизацию проводят в несколько этапов: предварительное замораживание при минус 40 °С в течение 24 часов, основная сушка при минус 50°C в течение 24 часов и остаточное высушивание при минус 20°C до достижения конечной влажности не более 5%.

Продукт представляет собой сухую, пористую, легкую массу с однородной структурой. Внешне он может выглядеть как мелкодисперсный порошок или хрупкие гранулы, сохраняющие пористую структуру, характерную для лиофилизированных материалов.

Пример 2. Осуществление способа получения симбиотической кормовой добавки, содержащей 10⁶ колониеобразующих единиц.

Берут 350 мл 12-часовой культуры *Bacillus subtilis* ВКМ В3728D, выращенной на среде LB, содержащей 1% пептона, 0,25% дрожжевого экстракта и 0,5% хлорида натрия, разбавленных дистиллированной водой. Проводят накопление биомассы бактерий штамма *Bacillus subtilis* ВКМ В3728D методом глубинного культивирования в

биореакторе на питательной среде следующего состава, масс%: сухая молочная сыворотка 1,5, хлорид натрия 0,03, дигидрофосфат калия 0,03, карбонат натрия 0,03 и сульфат железа 7-водный 0,003, вода дистиллированная свежеприготовленная остальное. Параметры культивирования: Ph 7±0,15, поддерживают с помощью 20% растворов гидроксида натрия и/или соляной кислоты, концентрация растворенного кислорода 70±5%, температура 30°C. Период культивирования длится 36 часов. Полученную культуральную жидкость центрифугируют при 8000 об/мин в течение 15 минут, осадок ресуспендируют в 100 мл 0,9% раствора хлорида натрия. Получают биомассу штамма *Bacillus subtilis* ВКМ В3728D 10⁶ колониеобразующих единиц.

Для подготовки сорбента бентонитовый материал, содержащий монтмориллонит натриевой формы, предварительно измельчают до частиц размером не более 100 мкм, затем подвергают стерилизации в сухожаровом шкафу при 180°C в течение 1,5 часов. После стерилизации бентонитового материала, содержащего монтмориллонит натриевой формы, в него добавляют водный раствор Трилона Б концентрацией 0,25 мг на литр, перемешивают до пастообразного состояния, в виде однородной массы без сухих комков.

В биомассу штамма *Bacillus subtilis* ВКМ В3728D содержащего 10⁶ колониеобразующих единиц по частям добавляют сорбент в виде пасты с водным раствором Трилона Б концентрацией 0,25 мг на литр, при следующем соотношении ингредиентов, масс% :

штамм <i>Bacillus subtilis</i> ВКМ В3728D	78
бентонитовый материал	20
раствор Трилона Б	2

Тщательно перемешивают после каждого добавления с помощью лабораторного миксера в течение 15 минут при скорости 50 об/мин, контролируя процесс, чтобы предотвратить образование пены.

Далее ёмкость с биокомпозицией ставят на орбитальный шейкер и перемешивают при 100 об/мин и температуре 36° С в течение 24 часов.

В стерильных условиях биокомпозицию разливают в предварительно простерилизованные стеклянные банки с закручивающимися крышками и подвергают лиофильной сушке. Лиофилизацию проводят в несколько этапов: предварительное замораживание при минус 40 °С в течение 24 часов, основная сушка при минус 50°C в течение 24 часов и остаточное высушивание при минус 20°C до достижения конечной влажности не более 5%.

Продукт представляет собой сухую, пористую, легкую массу с однородной структурой. Внешне он может выглядеть как мелкодисперсный порошок или хрупкие гранулы, сохраняющие пористую структуру, характерную для лиофилизированных материалов.

Пример 3. Проверка эффективности биокомпозиции, полученной по примеру 1 и 2. Проверка была проведена в отношении микотоксина зеараленон, который содержится во всем мире в ряде зерновых культур, таких как кукуруза, ячмень, овес, пшеница, рис и сорго, используемых в качестве корма для птиц.

С целью проверки эффективности подавления зеараленона биокомпозицией, полученной по примеру 1 и 2, была проведена экстракция зерна, зараженного следующими видами плесневых грибов: *Aspergillus unguis* F-1754, *Bipolaris sorokiniana* F-4006, *Alternaria brassicicola* F-1864, *Rhizoctonia solani* F-895, *Heterobasidion annosum* F-713, *Pythium vexans* F-1193. Все грибы показали выделение зеараленона в различных

концентрациях. Биокомпозиция была приготовлена в двух вариантах: один вариант содержал КОЕ *Bacillus subtilis* ВКМ В3728D равное 10^9 , второй - 10^6 .

Микотоксины получали следующим образом: зерно инфицировали культурами грибов штаммов *Aspergillus unguis* F-1754, *Bipolaris sorokiniana* F-4006, *Alternaria brassicicola* F-1864, *Rhizoctonia solani* F-895, *Heterobasidion annosum* F-713 и *Pythium vexans* F-1193.

Сначала на зерно наносили суспензию спор выбранных грибов, затем помещали образцы в инкубационные условия. Для создания необходимой влажной среды, способствующей активному росту грибов и продуцированию микотоксинов, зерно регулярно обрызгивали водой на протяжении двух недель. В этот период грибы выделяли микотоксины, которые затем использовались для дальнейшего анализа.

Для каждого вида плесневых грибов были внесены в асептических условиях в ламинарном боксе 2 класса защиты под включенной вытяжкой следующие навески биокомпозиции: 0,5 г и 1 г соответственно. Таким образом, было подготовлено:

- 6 банок, содержащих 0,5 г навески биокомпозиции с КОЕ *Bacillus subtilis* ВКМ В3728D равное 10^6 ,

- 6 банок, содержащих 0,5 г навески биокомпозиции с КОЕ *Bacillus subtilis* ВКМ В3728D равное 10^9 ,

- 6 банок, содержащих 1,0 г навески биокомпозиции с КОЕ *Bacillus subtilis* ВКМ В3728D равное 10^6 ,

- 6 банок, содержащих 1,0 г навески биокомпозиции с КОЕ *Bacillus subtilis* ВКМ В3728D 10^9 ,

- 6 банок контрольных, без внесения биокомпозиции.

Навески зерна инкубировали в шейкер-инкубаторе при температуре 35-40°C в течение 24 часов. После инкубации проводили экстракцию целевых соединений, используя смесь ацетонитрил:вода:муравьиная кислота в объемном соотношении 79:20:1. Встряхивание осуществляли в течение 10 минут, затем центрифугировали при 2700 об/мин в течение 5 минут. Далее экстракт обрабатывали путем добавления 1 мл гексана, насыщенного ацетонитрилом, и повторного встряхивания в течение 3 минут. После расслоения фаз нижний слой отбирали, смешивали с деионизированной водой и фильтровали через мембранный фильтр с размером пор 0,45 мкм. Оставшийся растворитель удаляли с помощью вакуумной центрифуги.

Далее проводили анализ микотоксинов методом высокоэффективной жидкостной хроматографии - ВЭЖХ. Для идентификации микотоксинов применяли стандартный раствор зеараленона с концентрацией 99,7 мкг на мл. Раствор зеараленона готовили, растворяя его в смеси ацетонитрила и воды в объемном соотношении 50:50.

В результате анализа были получены результаты, представленные в таблице 1.

Таблица 1. Концентрация зеараленона в образцах.

Вид гриба	Концентрация зеараленона в образцах, мкг/мл				
	Контроль	Навеска 0,5 г биокомпозиции		Навеска 1 г биокомпозиции	
	-	10 ⁶	10 ⁹	10 ⁶	10 ⁹
F-4006	86,44	37,98	15,99	5,15	4,38
F-1864	20,44	7,55	4,32	1,95	2,17
F-1754	18,33	11,30	4,96	1,78	3,84
F-895	15,70	5,74	10,62	4,49	7,32
F-713	8,42	3,16	2,77	3,61	2,29
F-1193	84,91	8,22	2,59	7,26	0,07

По полученным данным было рассчитано понижение концентрации зеараленона в процентах, для более точной оценки эффективности подавления зеараленона штаммом *Bacillus subtilis* ВКМ В3728D (табл. 2).

Таблица 2. Концентрация зеараленона в образцах, %.

Вид гриба	Концентрация зеараленона в образцах, %				
	Контроль	Навеска биокомпозиции 0,5 г		Навеска биокомпозиции 1 г	
		10 ⁶	10 ⁹	10 ⁶	10 ⁹
F-4006	100	53,02	18,51	7,19	5,06
F-1864	100	61,69	21,13	15,93	10,61
F-1754	100	60,21	27,06	32,13	20,92
F-895	100	23,81	68,94	16,14	6,02
F-713	100	21,66	33,07	9,88	27,13
F-1193	100	59,81	3,05	52,84	0,08

Результаты проведенных исследований свидетельствуют о высокой эффективности штамма *Bacillus subtilis* ВКМ В3728D в подавлении зеараленона. При навеске 1 г этой биокомпозиции наблюдается многократное уменьшение уровня микотоксина, что подчеркивает ключевую роль данного штамма.

Таким образом, заявленный состав симбиотической кормовой добавки обеспечивает достижение поставленной задачи. В полученной биокомпозиции *Bacillus subtilis* ВКМ В3728D эффективно снижает концентрацию зеараленона, а также выделяет вещества, которые стимулируют микрофлору кишечника и подавляют микотоксины. А обработанный раствором Трилона Б бентонитовый материал, содержащий

монтмориллонит натриевой формы, обладает развитой пористой структурой и высоким содержанием активного монтмориллонита, одновременно является питательной средой для штамма *Bacillus subtilis* ВКМ В3728D, что обеспечивает значительную сорбционную активность.

5

(57) Формула изобретения

Кормовая добавка для сельскохозяйственных животных и птиц, содержащая пробиотический компонент и сорбент, отличающаяся тем, что в качестве пробиотического компонента используют штамм *Bacillus subtilis* ВКМ В3728D с

10 биомассой КОЕ 10^6 - 10^9 ; в качестве сорбента используют измельчённый стерильный бентонитовый материал, содержащий монтмориллонит натриевой формы, предварительно растёртый в пасту с водным раствором Трилона Б концентрацией 0,25 мг на литр, при следующем соотношении ингредиентов, мас. %:

15	штамм <i>Bacillus subtilis</i> ВКМ В3728D	78
	бентонитовый материал	20
	раствор Трилона Б	2

20

25

30

35

40

45