**Министерство просвещения РФ**

**ГБУ ДО «Эколого-биологический центр» Министерства просвещения, науки и по делам молодежи КБР**

**Отдел естественных наук**

**Кабардино-Балкарская Республика**

**ИСЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ СУСПЕНЗИЙ ХЛОРЕЛЛЫ РАЗЛИЧНЫХ ВИДОВ НА КУР БРОЙЛЕРОВ**

**Автор: Османова Лейла Аслановна**

**9 кл. МКОУ «СОШ №25» г.о. Нальчик**

**Руководитель: Тухужева Жаннета Зауровна**

**Педагог дополнительного образования**

**ГБУ ДО «Эколого-биологический центр» Министерства просвещения КБР**

г. Нальчик

2021 г

**Оглавление**

Введение

1. Теоретическая часть

1.1 Микроводоросль Chlorella Vulgaris, химический состав и ее применение.

1.2.Химический состав

1.3.Применение Chlorella Vulgaris

2. Практическая часть

2.1. Культивирование микроводорослей

2.2. Микроскопирование

2.2.1.Определение плотности (численности) клеток водорослей методом прямого счета в камереГоряева

2.2.2.Порядок работы

2.3. Производственный эксперимент

… 2.4. Результаты исследований

3. Заключение

5. Библиография

**Введение**

Хлорелла – представитель зеленых водорослей – микроскопических водных растений. Использование суспензии хлореллы в кормовом рационе сельскохозяйственных животных позволяет получать дополнительные привесы до 40% и довести сохранность поголовья до 99%. Это достигается благодаря тому, что хлорелла является уникальным биологическим природным продуктом. Ни одно другое, водное или наземное растение не обладает таким количеством полезных свойств, какими наделена хлорелла.

Из-за полезных свойств хлореллы, ее применение в различных областях деятельности человека очень широкое:

• в сельском хозяйстве для подкормки растений, птиц и животных, в пчеловодстве и рыбном хозяйстве;

• в пищевой промышленности;

• в медицине, косметологии и парфюмерии;

• для очистки сточных вод и реабилитации водоёмов;

• для производства кислорода;

• для производства биотоплива.

Известно, что благодаря хлорелле можно добиваться:

• увеличения среднесуточных привесов при откорме крупнорогатого скота и свиней на 30-40%, увеличения удоев коров до 25%;

• резкого, до 4-5 раз, сокращения падежа молодняка за счет укрепления природного иммунитета животных;

• значительного продления сроков хозяйственного использования животных;

• увеличения плодовитости родительского стада, сокращения непродуктивных осеменений и сроков сервис-периода, экономии на ветпрепаратах;

• повышения усвояемости кормов, позволяющее экономить их расходование до 22% .

Производство суспензии хлореллы основано на фотосинтезе микроводорослей, который осуществляется в емкости, с использованием искусственного освещения и раствора углекислого газа.

Фотобиореактор – устройство для создания благоприятных условий культивирования хлореллы. Данное устройство, в зависимости от конструкции, способно работать в автоматическом или полуавтоматическом (с присутствием оператора) режиме. Позволяет выращивать значительные объемы данной водоросли в промышленном масштабе. В качестве источника света в закрытых установках традиционно применяют лампы накаливания, в том числе кварцевые галогенные с отражателями, зеркальные лампы, люминесцентные, но в настоящее время, на рынке светотехники широкое применение получили светодиоды, которые обладают рядом преимуществом перед традиционными источниками света.

В связи с выше сказанным, ***целью*** настоящей работы является получение наиболее оптимальной суспензии хлореллы для внедрение в подкорм кур бройлеров. В работе ставились следующие ***задачи:***

-Изучить процесс культиворавания Хлореллы;

-Изучить культуральную среду, в которой развивается хлорелла;

-Испытать полученные суспензии на курах бройлерах;

-Провести анализ качества суспензий Chlorella;

**Предметом исследования**

***Предмет исследования:*** является влияние суспензий на кур и определение наиболее подходящего типа суспензий

***Объект исследования:*** является суспензия Сhlorella

**1. Теоретическая часть**

**1.1 Микроводоросль Chlorella Vulgaris, химический состав и ее применение.**

Хлорелла – представитель зеленых водорослей – микроскопических водных растений.

Для приготовления кормовой добавки используется планктонный штамм Chlorella Vulgaris, который отличается высокой степенью использования световой энергии (КПД фотосинтетически активной радиации 3,6%) и химическим составом клетки по содержанию белков, незаменимых аминокислот, витаминов, набору микроэлементов, биологически активным веществам, с которыми не могут сравниться не только водные, но и наземные растения.

Для получения суспензии хлореллы используется минимальное количество химических реактивов, энергетических средств, полностью предотвращается загрязнение среды, а получаемая продукция является экологически чистой.

Производство суспензии хлореллы не имеет отходов, так как вся произведенная продукция используется в корм животным.

Высокая биологическая активность планктонного штамма дает возможность сократить дозировки и сроки выпаивания животным суспензии хлореллы, а эффект последействия позволяет сохранять высокие темпы роста и сохранности поголовья на весь период откорма.

Хлорелла является уникальной кормовой добавкой, не требующей больших трудозатрат и специальной подготовки персонала.

На сегодняшний день с микроводорослью хлорелла по получаемой продуктивности и сохранности поголовья животных, простоте использования и обслуживания, экономической эффективности никто не может конкурировать не только в России, но и за ее пределами.

Использование суспензии хлореллы в кормовом рационе

сельскохозяйственных животных позволяет получать дополнительные привесы до 40% и довести сохранность поголовья до 99%. Это достигается

благодаря тому, что хлорелла является уникальным биологическим природным продуктом. Ни одно другое, водное или наземное растение не обладает таким количеством полезных свойств, какими наделена хлорелла [2].

Хлорелла — активный продуцент белков, углеводов, липидов, витаминов. Соотношение этих соединений легко регулируется при изменении условий культивирования: если при выращивании на обычных минеральных средах в ее сухой биомассе содержится 40—55% белка, 35% углеводов, 5—10% липидов и до 10% минеральных веществ, то при изменении концентрации компонентов среды можно получить биомассу следующего состава: 9—88% белка, 5—86% липидов, 6—38% углеводов. Хлорелла, растущая на среде, богатой азотом, накапливает преимущественно белок, при дефиците азота она синтезирует главным образом жиры и углеводы, добавление к среде глюкозы и ацетата приводит к повышению содержания каротиноидов и т.д. По качеству продуцируемых белка и витаминов хлорелла превосходит все известные кормовые и пищевые продукты — белок содержит все необходимые аминокислоты, в том числе незаменимые, а в 1 г массы сухого вещества водоросли содержится: каротина (провитамина А) — 1000—1600 мкг, витамина B1 — 2—18, В2 — 21—28, В6 — 9, B12 — 0,025—0,1, С — 1300—5000, провитамина D — 1000, К — 6, РР — 110—180, Е — 10—350,

пантотеновой кислоты — 12—17, фолиевой кислоты — 485, биотина — 0,1, лейковорина — 22 мкг. В клетках хлореллы найдено в 1,5 раза больше, чем в дрожжах (богатый источник витаминов), инозита, биотина — в 2, пантотеновой кислоты — в 1,3, пара-аминобензойной кислоты — в 2,9 раза. Витамина B12 (цианкобаламина) нет ни в дрожжах, ни у высших растений, а хлорелла его продуцирует. Если в рыбьем жире содержится 6 витаминов, то в хлорелле — не менее 14. Количество витаминов — как в клетках, так и в культуральной среде — заметно варьирует в зависимости от условий выращивания и фазы развития водоросли.

Среди внеклеточных продуктов метаболизма хлореллы обнаружены витамин B1 (тиамин), В2 (рибофлавин), В3 (пантотеновая кислота), В5 (никотиновая кислота), В6 (пиридоксин), В12 (цианкобаламин), Вс (фолиевая кислота и ее производные), пара-аминобензойная кислота, Н (биотин), инозит. Содержание этих витаминов в среде значительно превосходит их количество в клетках. Так, на 6-й день культивирования хлореллы количество витаминов в среде максимально и составляет: для пантотеновой и пара-аминобензойной кислоты и биотина 80%, для пиридоксина — 70, тиамина, инозита, никотиновой кислоты — 60% общего содержания в клетках и среде. Затем эти цифры снижаются, но и на 14-й день выращивания они составляют около половины общего количества. Поэтому при использовании биомассы в качестве кормовых добавок следует учитывать это обстоятельство и спаивать животным суспензию клеток, не теряя находящиеся в среде витамины и другие биологически активные вещества.

Так как в белке хлореллы содержатся все незаменимые аминокислоты, его питательная ценность в 2 раза превосходит таковую для соевого белка. Если же сравнивать питательную ценность биомассы в целом, то окажется, что 1 кг ее равнозначен 4—5 кг сои. При добавлении 5—7 кг массы сухого вещества хлореллы к 1 т зерна его биологическая ценность увеличивается в 1,5 раза. По калорийности хлореллу можно приравнять к шоколаду, а ее белок равноценен белку сухого молока или мяса.

В Японии хлореллу добавляют в хлеб, кондитерские изделия, мороженое для обогащения их питательными веществами. А добавка к 10 частям муки 1 части смеси одноклеточных водорослей, в основном хлореллы, позволяет получать вареные и печеные продукты с улучшенными вкусовыми качествами и содержанием 22—29 г белка в 100 г продукта, что довольно много. На острове Тайвань хлореллу выращивают уже более 20 лет, и ежегодный «урожай» массы сухого вещества водоросли составляет 1,5 тыс. т. В Малайзии и на Филиппинах на пищевые цели расходуется более 500 т

хлореллы в год.

**1.2. Химический состав**

Хлорелла по праву имеет название «суперфуд», ведь она считается самой питательной водорослью в мире. По своим питательным свойствам она не уступает даже мясу. В ее составе сдержится невероятно большое количество полезных веществ, основными из которых являются:

- Фактор роста. Представлен сложным комплексом, состоящим из пептидов, аминокислот, витаминов и необходим для ускорения роста и деления хлорелл;

- Хлорофилл – вещество, которое обладает отличной регенерирующей способностью, то есть ускоряет процессы заживления;

- Спорополленин – выводит токсины и вредные вещества из организма;

- Хлореллин – является природным антибиотиком, обладающим бактерицидным действием;

- Хлореллан – обеспечивает противовирусный эффект за счет стимуляции выработки интерферона;

- Триптофан – в ходе сложных биохимических реакций в организме эта аминокислота превращается в серотонин – всем известный «гормон радости», а также в мелатонин, который нормализует сон.

**1.3. Применение хлореллы**

Хлореллу весьма успешно применяют в сельскохозяйственном производстве — скотоводстве, свиноводстве, звероводстве, птицеводстве, пчеловодстве — в качестве пищевых добавок к рациону животных, а также для улучшения плодородия почв, увеличения всхожести семян, при силосовании кормов и т.д.

Введение суспензии хлореллы в рацион сельскохозяйственных животных сокращает до минимума падеж молодняка, способствует лучшему усвоению корма, увеличивает сопротивляемость организма к заболеваниям, что особенно важно при стойловом содержании скота на откормочных пунктах и в зимний период, является профилактическим средством против авитаминозных заболеваний, повышает привесы свиней, крупного рогатого скота, кроликов, птиц, увеличивает яйценоскость кур. В рацион животных хлореллу можно добавлять в виде суспензии, пасты или сухой биомассы. Наиболее целесообразно использование суспензии, так как половина водорастворимых витаминов находится в среде. В птицеводстве применение хлореллы ведет к возрастанию привесов от 5 до 30%, более ранней оперяемости, повышению яйценоскости на 9—13%, массы яиц — на 11,5— 14% и содержания каротина в них — в 1,5—2 раза, к увеличению количества витаминов А и Е в печени, снижает гибель цыплят в 3—4 раза.

При использовании хлореллы в животноводстве наиболее целесообразно скармливать ее в виде суспензии с содержанием нескольких граммов сухого вещества в 1 л. Среднесуточные надои и привесы возрастают при этом на 15—20%.

В совхозе «Узденский» Минской области добавка суспензии хлореллы в количестве 3—3,5 л ежедневно к концентратному и концентратно- картофельному рациону откармливаемых подсвинков способствовала увеличению привесов на 9—10%, при этом показатели качества мясопродукции улучшались, депонирование витамина А в печени выросло на 92%, а витамина С — на 63%. В совхозе «Глыбочаны» Витебской области скармливание суспензии крупному рогатому скоту в количестве 5 л каждой корове увеличивало приросты и уменьшало заболеваемость скота.

Потребность животноводства в суспензии хлореллы очень велика, так как она с успехом используется в качестве витаминно-кормовой добавки для всех видов животных: крупного рогатого скота, свиней, овец, коз, кроликов, птиц, рыб, насекомых, чернобурых лис, норок и т.д. [4].

Учитывая совокупность приведенных выше данных о положительном влиянии подкормки суспензией хлореллы на показатели продуктивности различных животных, следует признать целесообразным строительство хотя бы небольшой установки (биореактора) для выращивания хлореллы на каждом животноводческом комплексе и птицефабрике для введения в рационы кормления животных жизненно необходимых веществ, содержащихся в биомассе данной водоросли. Это позволит сократить расходы на ветеринарные препараты, увеличит выживаемость поголовья и суточные привесы, будет способствовать получению дополнительной прибыли.

**2. Практическая часть**

**2.1. Культивирование микроводорослей**

На базе экспериментальной лаборатории КБГУ был запущен технологический процесс по производству суспензии Хлореллы. На сегодняшний день мы имеем 2 биореактора объёмом в 750 л. В качестве питательной среды используется модифицированная среда Тамия.

Питательные среды для культивирования водорослей можно разделить на три группы: синтетические, обогащенные и почвенные вытяжки.

Синтетические (искусственные) среды были созданы прежде всего для того, чтобы обеспечить культивирование водорослей как для экспериментальных исследований, так и для поддержания жизнеспособности штаммов.

Эти среды могут быть как жидкими, так и агаризованными. При использовании питательных сред следует помнить, что дистиллированная и деионизированная вода, а также ультрачистые химикаты могут содержать следовые количества посторонних примесей, измеряемых нанограммами или пикограммами.

Для культивирования микроводоросли Chlorella, используется среда Тамия.

Среда Тамия (г/л, применяется в различных разведениях для зеленых водорослей):

KNO3 – 5,0

MgSO4×7H2O – 2,50

KH2PO4 – 1,25

FeSO4×7H2O – 0,003

Раствор микроэлементов – 1 мл,

ЭДТА – 0,037

Раствор микроэлементов (г/л):

H3BO3 – 2,86;

MnCl2×4H2O – 1,81;

ZnSO4×4H2O – 0,222;

MoO3 – 176,4 мг/10л;

NH4VO3 – 229,6 мг/10л

**2.2. Микроскопирование**

**2.2.1.Определение плотности (численности) клеток водорослей методом прямого счета в камере Горяева**

Подсчет плотности (численности) клеток водорослей в камере Горяева проводят следующим способом:

Содержимое колбы с водорослями перемешивают вручную, затем пипеткой отбирают суспензию водорослей и наносят по одной капле на верхнюю и нижнюю части сетки счетной камеры Горяева. Затем камеру накрывают покровным стеклом, которое притирают по бокам до появления колец интерференции.

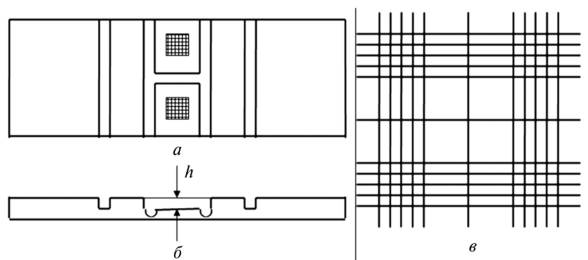
**2.2.2. Порядок работы**

1. Взятую в пипетку каплю суспензии водорослей необходимо очень быстро нанести на поверхность сетки, пока клетки водорослей не успели осесть в нижней части пипетки.
2. Нанесенную на поверхность сетки каплю суспензии водорослей следует быстро накрыть покровным стеклом и притереть его во избежание оседания клеток водорослей из капли.
3. После притирания покровного стекла и при подсчете клеток водорослей под микроскопом необходимо следить за тем, чтобы жидкость под покровным стеклом была распределена равномерно.
4. Камеры Горяева обычно имеют две сетки, разделенные желобком. В таких камерах наносят параллельно две капли суспензии водорослей.
5. Капли суспензии водорослей наносят не подряд из одной пипетки, а при двукратном взятии суспензии в пипетку из одной и той же колбы.

Через 1-2 мин после оседания клеток водорослей камеру Горяева помещают под объектив микроскопа и подсчитывают количество клеток водорослей во всех 25 больших квадратах сетки.

После подсчета клеток водорослей камеру Горяева сразу же тщательно моют водопроводной водой и протирают мягкой тканью (например, фланелью).

 Подсчет числа клеток водорослей в камере Горяева рекомендуется проводить при плотности (численности) клеток (1,0-2,5)×106 клеток/см3, так как при большей плотности (численности) клеток водорослей в суспензиях подсчет трудоемок и менее точен.



*Рисунок 1. - Счетная камера Горяева*

Плотность (численность) клеток водорослей X в 1 см3 суспензии водорослей рассчитывают по формуле

Х = т×104

где т  -суммарное количество клеток водорослей в учтенных больших квадратах сетки;

104 - коэффициент пересчета кубических миллиметров в кубические сантиметры.

Плотность (численность) клеток водорослей подсчитывают в каждой колбе, отбирая по две аликвоты.

За результат подсчета плотности (численности) клеток водорослей принимают среднеарифметическое значение не менее двух определений для каждой заданной кратности разбавления (концентрации) анализируемой пробы, в том числе и контрольной пробы, которое вычисляют с допускаемым отклонением не более ±7 %.

**2.3. Производственный эксперимент**

Полученная суспензия прошла испытания на курах-бройлерах кросса ROS 380, контрольная и опытная группы составляли по 500 особей каждая. Взвешивание цыплят проводили в течение всего эксперимента каждые 7 дней. Результаты представлены в табл.1.

Контрольная группа с 5-го дня после вылупления употребляла различные гормоны роста, антибиотики, витамины и комбикорм. Опытная группа бройлеров получала комбикорм и в качестве биодобавки суспензиию Хлореллы, норма которой составляла на 1 голову 5-30 мл/день.

**2.4.Результаты исследований.**

Результаты исследования показали, что опытная группа достигла нужного веса (3,2 кг) уже на 38 день, тогда как при обычном разведении тур составляет 41 день. При этом падеж в опытной группе меньше на 4 %, чем в опытной группе. (см. таб.1)

Введение суспензии хлореллы в рацион сельскохозяйственных животных сокращает до минимума падеж молодняка, способствует лучшему усвоению корма, увеличивает сопротивляемость организма к заболеваниям В рацион животных хлореллу можно добавлять в виде суспензии, пасты или сухой биомассы. Наиболее целесообразно использование суспензии, так как половина водорастворимых витаминов находится в среде. В птицеводстве применение Хлореллы ведет к возрастанию привесов от 5 до 30% и более ранней оперяемости.

*Таблица 1: Прирост живой массы цыплят, г*

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| **Дата** | **Кол-во дней** | **Опытная группа 1**  **(Chlorella-KPh) (вес, г)** | **Опытная группа 2**  **(Chlorella-N)**  **(вес, г)** | **Контрольная группа**  **(вес, г)** |
| 13.09.2021 | 0 | 41 (ср. вес при посадке) | 41 (ср. вес при посадке) | 41 (ср. вес при посадке) |
| 18.09.2021 | 5 | 200.7 | 200.7 | 200,7 |
| 25.09.2021 | 12 | 700,0 | 755,0 | 685,0 |
| 01.10.2021 | 18 | 1220,6 | 1295,8 | 1198,1 |
| 07.10.2021 | 24 | 1650,5 | 1700,5 | 1605,0 |
| 13.10.2021 | 30 | 2330,0 | 2500,0 | 2295,5 |
| 29.10.2021 | 38 | 3000,0 | 3200,0 | 2920,0 |
| 02.11.2021 | 41 | 3200 |  |  |

**3. Заключение**

Относительно простая организация, большая скорость размножения, возможность культивирования в полностью контролируемых условиях, высокая пластичность метаболизма давно сделали хлореллу классическим объектом промышленного культивирования с целью создания на этой основе новой технологии получения препаратов для тонкой химии, медицины, парфюмерии, сельского хозяйства, а также ферментов и других биологически активных веществ для научных целей.

В последние десятилетия работы по массовому культивированию хлореллы в ряде стран активизировались, причем данные физиолого-биохимических исследований свидетельствуют о перспективности ее как продуцента ценных природных соединений. По сравнению с обычными сельскохозяйственными растениями хлорелла имеет более высокий КПД усвоения солнечной энергии, способна к миксотрофному (смешанному) типу питания и эффективной утилизации света низкой интенсивности. Производство биомассы хлореллы экономически более выгодно, нежели получение белка микробиологическим путем, причем затраты на минеральные соли, применяемые для приготовления питательных сред, можно сократить, используя обычные минеральные удобрения либо отходы различных промышленных производств.

В своих исследованиях мы можем задавать необходимые свойства Хлореллы в зависимости от состава среды. Количество витаминов — как в клетках, так и в культуральной среде — заметно варьирует в зависимости от условий выращивания и фазы развития водоросли [2]. Поэтому при использовании биомассы в качестве кормовых добавок следует учитывать это обстоятельство и использовать суспензию клеток, не теряя находящиеся в среде витамины и другие биологически активные вещества.

**Выводы:**

1. Наилучшее влияние оказывает Chlorella-N за счет большего содержания азота в культуральной среде, что в свою очередь способствует синтезу большего количества белка.

2. Большое количество белка в прикорме способствует быстрому набору мышечной массы циплятами

3. При использовании суспензии Хлореллы в качестве подкормки, производство получает продукт на 3 дня раньше. Благодаря чему, затраты, на создание условий для выращивания сокращаются, что в свою очередь экономически выгодно для владельца.

4. Также можно заметить, что затраты, на добавки, сокращаются, что оказывает неоспоримое положительное влияние на экономику предприятия.

**Библиография**

1. Арьянова Э. Д. , Иванова С. С. , Карпова О. С. , Трофимчук О. А. , Шевченко И. Г. , Алексеев М. А. , Коршунов К. О. Культиватор для выращивания хлореллы в искусственных условиях // Архитекторы будущего: сборник научных трудов Всероссийской научной школы по инженерному изобретательству, проектированию и разработке инноваций, Томск, 28-30 Ноября 2014. - Томск: ТПУ, 2014 - C. 18-23.

2. Научно исследовательский институт альгобиотехнологии // Использование хлореллы для выращивания и откорма сельскохозяйственных животных. Пенза, 2004 - С.

3. Лисовский Г. М. Управляемое культивирование микроводорослей. Изд.

«Наука», 1964. – 153с.

4. Мананкина Елена, Мельников Станислав. Научно – практический журнал "Наука и инновации" // Использование хлореллы в кормлении сельскохозяйственных животных. Номер 8(90) 2010.

5. Складнев Д. А. Интернет-журнал «Коммерческая биотехнология». [Электронный ресурс]. Режим доступа: http://cbio.ru/page/43/id/3433/, свободный. Дата обращения: 1.02.16.

6. Официальный сайт компании ООО "Энерготехнопром". [Электронный ресурс]. Режим доступа: http://www.biovet-service.ru/uslugi/chlorellarost.html, свободный. Дата обращения: 10.02.16.

7. Официальный сайт компании "Агросервер" (Российский агропромышленный сервер). [Электронный ресурс]. Режим доступа: http://www.agroserver.ru/b/fotobioreaktory-dlya-vyrashhivaniya-mikrovodorosley- khlorella-i-s-167300.htm, свободный. Дата обращения: 10.02.16.

8. Мещерякова Ю.В. «Культивирование микроводоросли хлорелла с целью получения биотоплива»/ Ю.В. Мещерякова, С.А. Нагорнов// университет им. В.И. Вернадского, Вопросы современной науки и практики – 2012 – специальный выпуск (43) - С. 33–36.

9. Официальный сайт ООО «Башкирская птица». Режим доступа: http://башптица.рф/ 2013/10/09/хлорелла/, свободный. Дата обращения: 20.11.15

10. Официальный сайт DIALux Help: расчет и проектирование. Режим доступа: http://www.dialux-help.ru/, свободный. Дата обращения: 28.08.15.

11. Алексеев М. А. , Арьянова Э. Д. , Иванова С. С. , Карпова О. С. , Коршунов К. О. , Трофимчук О. А. , Шевченко И. Г. Фотобиореактор для культивирования хлореллы // Научно-образовательный потенциал молодежи в решении актуальных проблем XXI века. - 2015 - №. 3. - C. 221-223.

12. А.А. Попков. Неотложные проблемы агропромышленного комплекса Республики // Весці НАН Беларусі. Сер. аграрных навук. №3, 2007. С. 5—15.