

**Аннотация проекта (ПНИЭР), выполняемого в рамках ФЦП
«Исследования и разработки по приоритетным направлениям
развития научно-технологического комплекса России на 2014 -
2020 годы»**

**Номер Соглашения о предоставлении субсидии/государственного
контракта:** 14.580.21.0006

Название проекта: Разработка технологий производства импортозамещающих препаратов: кормового антибиотика и биоконсерванта для животноводства с использованием доступного отечественного сырья.

Основное приоритетное направление: Науки о жизни. Комплексные проекты

Исполнитель: федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования "Алтайский государственный университет"

Руководитель проекта: Дурникин Дмитрий Алексеевич

Должность: кандидат биологических наук

E-mail: vahoru@mail.ru

Ключевые слова: *кормовой антибиотик, биоконсервант, корма, профилактика, лечение, сельскохозяйственные животные, некротический энтерит, дизентерия, опытно-промышленная технология, субстанция, биосинтез, штамм, продуктивность, установка, сформированное досье, опытно-промышленный регламент, технические условия.*

Цель проекта

1. Проект направлен на решение текущих проблем в с/х РФ:

- Проблема оптимизации рентабельности производственного процесса ввиду использования сопутствующих производству ключевых продуктов, закупаемых по линии импорта - комбикорма с внесением в их состав различного рода добавок
- Конкурентоспособность с/х продукции российского производства резко падает ввиду присутствия в себестоимости производства затрат на закупку импортных антибиотиков (до 90% импорта) и консервантов кормов (до 70% импорта)
- Отсутствие российских аналогов ключевых препаратов и продуктов для сельского хозяйства - кормовых антибиотиков на основе вирджиниамицина и биоконсервантов кормов для КРС (сухая форма)

При этом, проект нацелен на решение научных проблем:

а. Вирджиниамицин

Проблема - невысокая продуктивность штаммов (мировой уровень 3-4 г/л). В рамках проекта будет разработан штамм с продуктивностью не менее 5 г/л (значительное преимущество в многотоннажном производстве).

б. Биоконсервант

Проблема - консорциум бактерий при силосовании растет на малодоступных из субстрата сахарах (требуются простые сахара). В рамках проекта будет сформирован синтез ферментов, обеспечивающих гидролиз целлюлозы и гемицеллюлоз до доступных сахаров одним из членов консорциума.

2. Цели проекта:

- а. Разработка технологии получения биоконсерванта в лиофилизированной форме для заготовки зеленой массы кормов для сельскохозяйственных животных.
- б. Разработка технологии получения кормового антибиотика для сельскохозяйственных животных.
- в. Разработка интегрированных систем кормления сельскохозяйственных животных

Достижение вышеуказанных целей обеспечивается с использованием результатов прикладных научных исследований, выполняемых в период 2015-2016 годов. Задачи проекта:

ПНИ-1 «Разработка биотехнологического способа получения кормового антибиотика»:

Разработка методик получения субстанции и готовой формы антибиотика
Разработка лабораторных регламентов процесса получения субстанции и готовой формы кормового антибиотика
Наработка лабораторных партий

ПНИ-2 «Разработка способа получения биоконсерванта в лиофильно высушенной форме с увеличенной длительностью хранения и стабильными качественными показателями»:

Разработка штаммов и методики проведения молекулярно-биологического анализа штаммов *Lactobacillus plantarum*, *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* и *Propionibacterium acidipropionici*
Разработка методики получения штамма *Lactobacillus plantarum*, обладающего гликозил-гидролазной активностью
Разработка лабораторного регламента получения готовой формы биоконсерванта на основе консорциума штаммов
Наработка лабораторной партии готовой формы биоконсерванта

ПНИ-3 «Разработка интегрированных систем кормления сельскохозяйственных животных препаратом на основе кормового антибиотика и кормами, заготовленными с использованием биоконсерванта»:

Проведение токсикологических исследований кормового антибиотика и биоконсерванта
Проведение регистрационных испытаний кормового антибиотика и биоконсерванта в кормлении с/х животных
Разработка технологических регламентов по организации кормления с/х животных и птицы

Основные планируемые результаты проекта

Конечная продукция, создаваемая в рамках проекта:

А. Высокоэффективная технология производства препарата на основе кормового антибиотика вирджиниамицина отвечающая следующим техническим требованиям:

- продуктивность штамма *Streptomyces virginiae* не менее 5 г/л,
- суммарный выход антибиотика вирджиниамицина на стадиях выделения и очистки не менее 80%;

Б. Высокоэффективная технология производства биоконсерванта, отвечающая следующим техническим требованиям:
содержание жизнеспособных клеток микроорганизмов в сухом препарате не

менее 1×10^{11} КОЕ/г.,
получение кормов не ниже 1 класса качества в результате использования биоконсерванта при заготовке.

Результаты ПНИЭР будут содержать:

- Аналитический обзор современной научно-технической, нормативной, методической литературы, затрагивающей научно-техническую проблему методов разработки опытно-промышленных биотехнологий, проектирования, разработки и создания опытно-промышленных установок для отработки опытно-промышленных биотехнологий получения биоконсерванта и кормового антибиотика. Выбор и обоснование направления исследований.
- Патентные исследования в соответствии с ГОСТ 15.011-9.
- Рабочий проект на опытно-промышленную установку получения кормового антибиотика.
- Опытно-промышленная установка получения кормового антибиотика.
- Опытно-промышленная технология производства кормового антибиотика.
- Опытно-промышленный регламент процесса производства кормового антибиотика.
- Опытно-промышленная партия кормового антибиотика для проведения регистрационных испытаний в рамках ПНИ-З.
- Проект ТУ на субстанцию кормового антибиотика.
- Проект ТУ на готовую форму кормового антибиотика.
- Сформированное досье на государственную регистрацию кормового антибиотика.
- Рабочий проект на опытно-промышленную установку получения биоконсерванта в лиофилизированной форме.
- Опытно-промышленная установка получения биоконсерванта в лиофилизированной форме.
- Опытно-промышленная технология производства биоконсерванта в лиофилизированной форме.
- Опытно-промышленный регламент процесса производства биоконсерванта в лиофилизированной форме.
- Опытно-промышленная партия биоконсерванта в лиофилизированной форме для проведения регистрационных испытаний в рамках ПНИ-З.
- Проект ТУ на готовую форму биоконсерванта в лиофилизированной форме.
- Сформированное досье на государственную регистрацию биоконсерванта в лиофилизированной форме

Краткая характеристика создаваемой/созданной научной (научно-технической, инновационной) продукции

Конечные продукты:

А. Высокоэффективная технология производства препарата на основе кормового антибиотика вирджиномицина отвечающая следующим техническим требованиям:

- продуктивность штамма *Streptomyces virginiae* не менее 5 г/л,

- суммарный выход антибиотика вирджиниамицина на стадиях выделения и очистки не менее 80%;

Б. Высокоэффективная технология производства биоконсерванта, отвечающая следующим техническим требованиям:
содержание жизнеспособных клеток микроорганизмов в сухом препарате не менее 1×10^{11} КОЕ/г.,
получение кормов не ниже 1 класса качества в результате использования биоконсерванта при заготовке.

Научная новизна:

А. Кормовой антибиотик

Проблема: Невысокая продуктивность штаммов (мировой уровень 3-4 г/л).

Решение: Разработка штамма с продуктивностью не менее 5 г/л (значительное преимущество в многотоннажном производстве).

Методы:

- Индуцированный ненаправленный мутагенез, селекция;
- Разработка процесса биосинтеза (не менее 5 г/л);
- Разработка метода выделения и очистки вирджиниамицина.

Б. Биоконсервант

Проблема: Консорциум бактерий при силосовании растет на малодоступных из субстрата сахарах (требуются простые сахара)

Решение: Синтез ферментов, обеспечивающих гидролиз целлюлозы и гемицеллюлоз до доступных сахаров одним из членов консорциума.

Методы:

- Идентификация целевых генов у родственных штаммов, гидролизующих полисахариды, в результате секвенирования геномов;
- Создание биоинженерного штамма *Lactobacillus plantarum*, экспрессирующего гены гликозил-гидролаз (целлюлаза, ксиланаза).

Достижение целей и планируемых результатов проекта обеспечивается с использованием результатов прикладных научных исследований, выполняемых в период 2015-2016 годов:

ПНИ-1 «Разработка биотехнологического способа получения кормового антибиотика»:

- Разработка методик получения субстанции и готовой формы антибиотика
- Разработка лабораторных регламентов процесса получения субстанции и готовой формы кормового антибиотика
- Нарботка лабораторных партий

ПНИ-2 «Разработка способа получения биоконсерванта в лиофильно высушенной форме с увеличенной длительностью хранения и стабильными качественными показателями»:

- Разработка штаммов и методики проведения молекулярно-биологического анализа штаммов *Lactobacillus plantarum*, *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* и *Propionibacterium acidipropionici*
- Разработка методики получения штамма *Lactobacillus plantarum*, обладающего гликозил-гидролазной активностью
- Разработка лабораторного регламента получения готовой формы биоконсерванта на основе консорциума штаммов
- Наработка лабораторной партии готовой формы биоконсерванта

ПНИ-З «Разработка интегрированных систем кормления сельскохозяйственных животных препаратом на основе кормового антибиотика и кормами, заготовленными с использованием биоконсерванта»:

- Проведение токсикологических исследований кормового антибиотика и биоконсерванта
- Проведение регистрационных испытаний кормового антибиотика и биоконсерванта в кормлении с/х животных
- Разработка технологических регламентов по организации кормления с/х животных и птицы

Назначение и область применения, эффекты от внедрения результатов проекта

Перспективы практического использования результатов комплексного проекта:

- По итогам проведения комплекса НИОКР, подготовки досье на гос. регистрацию и передачи технологий в производство индустриальному партнеру будут получены рег. удостоверения и технологии внедрены в производство, с соответствующим выпуском на рынок опытных партий препаратов.
- Продукты имеют значительный потенциал для реализации на рынке за счет показателей эффективности препарата и цены ниже мировых аналогов.

Потребители: Животноводческие хозяйства, имеющие поголовья крупного рогатого скота, кур, индюков, свиней

А. Кормовой антибиотик

Замещаемый импортный препарат: Стафак 110

Объем импорта: 860 млн руб. в 2014 г. с перспективой до 1,3 млрд руб. в 2020 г.;

Цена: на 30-35% ниже импортного аналога;

Замещение: доля на рынке 5% в 2018 г. до 40% к 2022 г.

Зарубежный препарат для сельскохозяйственных животных (Стафак 110, производитель - Phibro Animal Health Corp., США) на основе антибиотика вирджиниамицина применяется для профилактики и лечения некротического энтерита кур и дизентерии свиней. Данный антибиотик вышел на рынок РФ в 2009 г и к настоящему времени стал одним из основных препаратов группы. При этом, Стафак 110 является единственным препаратом на основе вирджиниамицина на рынке РФ.

Предлагается разработать импортозамещающую эффективную технологию и организовать производство российского кормового антибиотика на основе вирджиниамицина (аналога препарата Стафак 110). Планируется создать новый, высокоактивный штамм, способный продуцировать не менее 5 г/л антибиотика вирджиниамицина в культуральной жидкости в результате проведения процесса ферментации. Мировой уровень продуктивности штаммов для данной технологии на сегодняшний день составляет приблизительно 3-4 г/л. В условиях тоннажного производства данная разница значительна. Новый штамм продуцент вирджиниамицина будет создан при помощи уникальных методов многоступенчатого мутагенеза и селекции. Предлагается разработать высокоэффективную технологию производства кормового антибиотика на опытно-промышленном уровне с разработкой опытно-промышленного регламента на производство. Это позволит оперативно и качественно внедрить технологию на производственных мощностях Индустриального партнера. Опытно-промышленная технология будет разработана на созданной в рамках проекта опытно-промышленной экспериментальной установке получения кормового антибиотика.

Б. Биоконсервант

Замещаемый импортный препарат: Siloferm HC, BioCool Extra HC (AGRAVIS Raiffeisen AG), Bio Stabil (Biomim), Biotal (Lallemand)

Объем импорта: 300 млн руб. в 2014 г., с перспективой до 690 млн в 2020 г.

Цена: на 35-40% ниже импортных аналогов

Замещение: доля на рынке 5% в 2018 г. до 40% к 2022 г.

На сегодняшний день, биоконсерванты в сухой форме на рынке РФ представлены только зарубежными производителями.

Предлагается разработать импортозамещающую эффективную технологию и организовать производство российского препарата биоконсерванта на основе высокотехнологичных (сухих) готовых форм. Сухая форма препарата обладает преимуществами над жидкими и пастообразными формами за счет увеличенного срока хранения и высокого содержания биологически активных клеток микроорганизмов. Штаммы микроорганизмов будут созданы с применением уникальных технологий генной инженерии, мутагенеза и селекции. Опытно-промышленная технология будет разработана на созданной в рамках проекта опытно-промышленной экспериментальной установке получения биоконсерванта в лиофилизированной форме.

Исходя из цели проекта, будет создан биоконсервант, по своему технологическому уровню не уступающий импортным аналогам, но выигрывающий в цене на 35-40%.

Эффекты от внедрения результатов:

- Доступ животноводческих хозяйств к кормовым антибиотикам и биоконсервантов для КРС российского производства, являющихся более эффективными и доступными по цене аналогами зарубежных препаратов
- Повышение качества и эффективности животноводческой базы с/х хозяйств
- Экономия на закупках зарубежных препаратов

- Повышение продовольственной безопасности РФ

Полученные результаты исследований планируется опубликовать не менее чем в двух научных журналах, индексируемых в РИНЦ, SCOPUS или Web of Science, с целью развития системы демонстрации и популяризации науки, обеспечения развития материально-технической и информационной инфраструктуры

Текущие результаты проекта

В результате проводимой исследовательской работы в 2015 году получены предварительные результаты:

- Проведен аналитический обзор и патентные исследования, выбор и обоснование методов исследований
- Проводятся работы по разработке штамма *Streptomyces virginiae*, обладающего продуктивностью не менее 5г/л
- Разрабатываются методики биосинтеза и химической очистки вирджиниамицина
- Разрабатываются методики культивирования и наработки штаммов *Lactobacillus plantarum*, *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* и *Propionibacterium acidipropionici*.
- Разрабатывается методика определения содержания вирджиниамицина в субстанции методом ВЭЖХ.
- Разрабатываются лабораторные регламенты получения биоконсерванта и кормового антибиотика
- Разрабатывается рабочий проект на опытно промышленную установку производства биоконсерванта

Использование результатов проекта:

- Полученные результаты будут использованы для разработки опытно-промышленных технологий получения биоконсерванта и кормового антибиотика в рамках ПНИЭР.
- Опытные образцы будут использованы для токсикологических исследований и испытаний по показателям качества
- На основе лабораторных регламентов в рамках ПНИЭР будут разработаны опытно-промышленные технологии, опытно-промышленные установки и опытно-промышленные регламенты получения биоконсерванта и кормового антибиотика
- Нарботанные опытно-промышленные партии будут использованы для регистрационных испытаний и разработки технологических регламентов кормления сельскохозяйственных животных и птицы
- Разработанные эффективные технологии позволят организовать производства биоконсерванта на основе высокотехнологичных (сухих) форм и кормового антибиотика российского производства.