

Научная статья/Research Article

УДК 636.2.033:636.084

DOI: 10.36718/1819-4036-2022-12-134-139

Константин Сергеевич Денисенко¹, Галимжан Калиханович Дускаев^{2✉},

Баер Серекпаевич Нуржанов³

¹Федеральный научный центр биологических систем и агротехнологий РАН, Оренбург, Россия

¹fncbst@mail.ru

²gduskaev@mail.ru

³baer.nurzhanov@mail.ru

ВЛИЯНИЕ ЖМЫХА КОНОПЛЯНОГО НА ПЕРЕВАРИМОСТЬ И РУБЦОВЫЙ МЕТАБОЛИЗМ *IN VITRO*

Цель исследования – изучение влияния различных доз жмыха конопляного на переваримость сухого вещества концентрированного корма *in vitro* и рубцовый метаболизм. Эксперимент проводился на базе Центра коллективного пользования ФНЦ БСТ РАН на модели «искусственного рубца» с использованием установки – инкубатора «АНКОМ Daisy II» (модификации D200 и D200I). Были подготовлены 4 образца в трех повторениях: контрольная группа – зерносмесь 100 %; I группа – зерносмесь 86 % + жмых конопляный 14 %; II группа – зерносмесь 80 % + жмых конопляный 20 %; III группа – зерносмесь 74 % + жмых конопляный 26 %. Было установлено, что внесение жмыха конопляного в разных дозировках в образец с сухим веществом зерна ячменя способствовало переваримости его на 1,5 %, 3,81 и 4,82 % по сравнению с контролем. При этом лучшей переваримостью отличался образец в 3-й группе, содержащий 26 % конопляного жмыха. Содержание общего азота в рубцовой жидкости III группы было на 36,4 мг/%, 37,8 и 35,0 мг/% больше, чем в контрольной, I и II группах соответственно. Контрольный образец по накоплению ЛЖК в рубцовой жидкости уступал I и III группам на 8,28 и 17,14 %. Наибольшее количество аммиачного азота отмечалось в рубцовой жидкости из III группы, на 0,7 мг/‰ относительно контроля. Так, данные таблицы показывают, что внесение максимального количества изучаемой добавки (III группа) по сравнению с базовым вариантом способствовало лучшему развитию бактерий в рубцовом содержимом на 41,71 %. Что касается простейших, то здесь наблюдается последовательное увеличение их количества во всех опытных группах – на 24,24 %, 52,27 и 139,39 % в сравнении с контролем.

Ключевые слова: переваримость, метаболизм, рубец, жмых конопляный, *in vitro*

Для цитирования: Денисенко К.С., Дускаев Г.К., Нуржанов Б.С. Влияние жмыха конопляного на переваримость и рубцовый метаболизм *in vitro* // Вестник КрасГАУ. 2022. № 12. С. 134–139. DOI: 10.36718/1819-4036-2022-12-134-139.

Благодарности: исследование выполнено в рамках проекта №0761-2019-0005.

Konstantin Sergeevich Denisenko¹, Galimzhan Kalikhanovich Duskaev^{2✉},

Baer Serepaeovich Nurzhanov³

¹Federal Research Center for Biological Systems and Agrotechnologies, Russian Academy of Sciences, Orenburg, Russia

¹fncbst@mail.ru

²gduskaev@mail.ru

³baer.nurzhanov@mail.ru

HEMP CAKE INFLUENCE ON DIGESTIBILITY AND RUMEN METABOLISM *IN VITRO*

The purpose of research is to study the effect of various doses of hempseed cake on the *in vitro* digestibility of the dry matter of concentrated feed and rumen metabolism. The experiment was carried out on the basis of the Center for Collective Use of the Federal Scientific Center of the BST RAS on the "artificial scar" model using the ANKOM Daisy II incubator (modifications D200 and D200I). 4 samples were prepared in three repetitions: Control group – grain mixture 100 %; Group I – grain mixture 86 % + hemp cake 14 %; Group II – grain mixture 80 % + hemp cake 20 %; Group III – grain mixture 74 % + hemp cake 26 %. It was found that the introduction of hemp cake in different dosages into a sample with dry matter of barley grain contributed to its digestibility by 1.5 %, 3.81 and 4.82 % compared to the control. At the same time, the sample in group III, containing 26 % hemp cake, was distinguished by the best digestibility. The content of total nitrogen in the rumen fluid of group III was 36.4 mg/%, 37.8 and 35.0 mg/% more than in the control, I and II groups, respectively. The control sample was inferior to I and III groups by 8.28 and 17.14 %. The largest amount of ammonia nitrogen was noted in the rumen fluid from group III, by 0.7 mg/% relative to the control content by 41.71 %. As for the protozoa, there is a consistent increase in their number in all experimental groups – by 24.24 %, 52.27 and 139.39 %, in comparison with the control.

Keywords: digestibility, metabolism, rumen, hemp cake, *in vitro*

For citation: Denisenko K.S., Duskaev G.K., Nurzhanov B.S. Hemp cake influence on digestibility and rumen metabolism *in vitro* // Bulliten KrasSAU. 2022;(12): 134–139. (In Russ.). DOI: 10.36718/1819-4036-2022-12-134-139.

Acknowledgments: the study has been carried out within the framework of project No. 0761-2019-0005.

Введение. *Cannabis sativa* L. богата биологически активными соединениями и используется в пищевой, фармацевтической и медицинской промышленности. Недавнее возрождение этого полезного растения можно объяснить обилием его фитохимических веществ [1], волокон и сельскохозяйственными свойствами, в том числе хорошей устойчивостью к засухе и вредителям, а также хорошо развитой корневой системой, предотвращающей эрозию почвы [2, 3]. Интерес к семенам конопли растет из-за их высокой питательной ценности в качестве функционального продукта питания [4]. Жмых, в том числе конопляный, производится методом холодного отжима семян и является одним из наиболее ценных источников белков, соответственно он подходит для питания жвачных животных в качестве альтернативного источника белка и жира [5, 6].

Не менее важной особенностью включения продуктов конопли в корма для животных является положительное с точки зрения здоровья человека влияние жирно-кислотного состава мяса, яиц и молока при обогащении ω -3 ПНЖК [7].

Однако в полном объеме отсутствуют сведения о дозах введения побочных продуктов переработки семян конопли в рационы жвачных животных, в связи с чем данное исследование является актуальным.

Цель исследований – изучение влияния различных доз жмыха конопляного на переваримость сухого вещества концентрированного корма *in vitro* и рубцовый метаболизм.

Задачи: установить влияние различных доз введения жмыха конопляного на переваримость сухого вещества концентрированного корма *in vitro*, биомассу микроорганизмов, состав и содержание азотистых веществ в жидкости рубца.

Объект и методы. Рубцовая жидкость молодняка крупного рогатого скота (отбор проводился через хроническую фистулу рубца); бычки казахской белоголовой породы 14-месячного возраста.

Для проведения эксперимента были подготовлены 4 образца в трех повторениях: контрольная группа – зерносмесь 100 %; I группа – зерносмесь 86 % + жмых конопляный 14 %; II группа – зерносмесь 80 % + жмых конопляный 20 %; III группа – зерносмесь 74 % + жмых конопляный 26 %.

Исследования переваримости сухого вещества и микробиома рубца проводили методом нейлоновых мешочков: *in vitro* – с использованием модели «искусственного рубца» на установке – инкубатора ANKOM Daisy II (модификации D200 и D200I). Термостат ТС-1/80 СПУ (ООО «Амедис Инжиниринг», г. Нижний Новгород, Россия) при 24-часовой экспозиции.

Для характеристики ферментативных процессов в рубце отбирали пробы рубцовой жидкости по завершении инкубации в искусственном рубце, в которых определяли концентрацию аммонийного азота по Конвею, общего азота, белкового и небелкового азота по Кьельдалю, рН на потенциометре ЭВ-74. Массу бактерий и простейших определяли из среднесуточной пробы рубцового содержимого методом дифференциального центрифугирования.

Статистический анализ выполняли с помощью офисного программного комплекса MS Excel

с обработкой данных в Statistica 10.0 с использованием методик ANOVA. Достоверность различий сравниваемых показателей определяли по *t*-критерию Стьюдента. Уровень значимой разницы был установлен при $P \leq 0,05$.

Результаты и их обсуждение. Введение в пробу с концентрированным кормом жмыха конопляного в дозе от 14 до 26 % оказало положительное влияние на переваримость сухого вещества (табл. 1).

Таблица 1

Переваримость сухого вещества концентрированного корма *in vitro*, %

Группа	Показатель
Контрольная (зерносмесь 100 %)	84,39±1,27*
I	85,89±2,0
II	88,2±0,61**
III	89,21±2,12

* $P \leq 0,05$; ** $P \leq 0,01$.

Было установлено, что внесение жмыха конопляного в разных дозировках в образец с сухим веществом зерна ячменя способствовало переваримости его на 1,5 %; 3,81 и 4,82 % по сравнению с контролем. При этом лучшей переваримостью отличалась группа № 3, содержащая 26 % конопляного жмыха. В своих исследованиях иностранные авторы также отмечают, что жмых семян конопли (HSC) является побочным продуктом переработки масла холодного

отжима, который имеет высокое содержание сырого протеина (СР) ($341 \pm 50,4$ г/кг сухого вещества; DM) с относительно сбалансированным аминокислотным составом [8].

Результаты исследований *in vitro* свидетельствуют о том, что введение в составе концентратов жмыха конопляного оказывает заметное влияние на содержание азотистых метаболитов рубцовой жидкости (рис. 1).

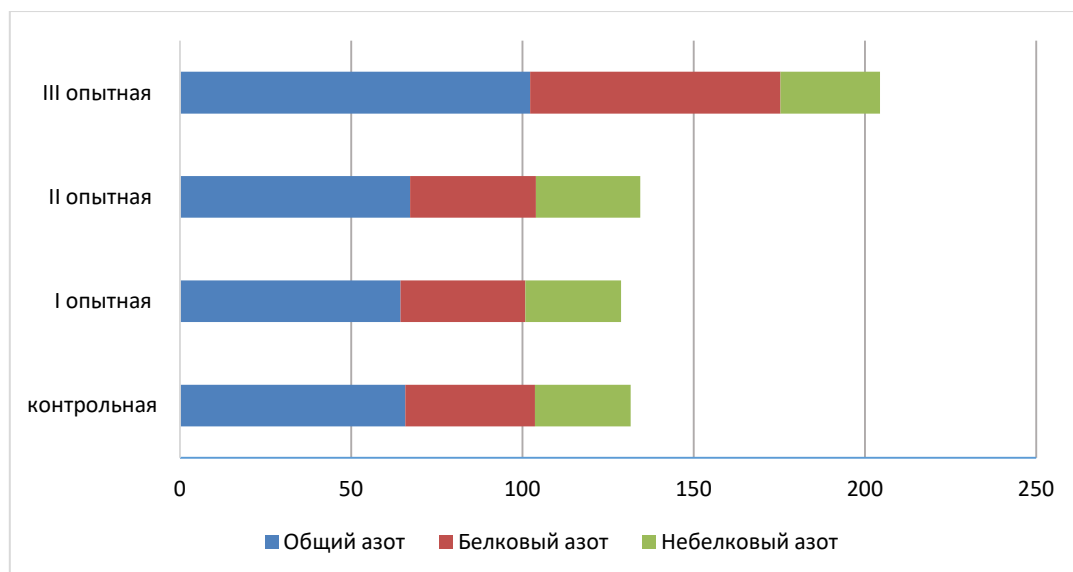


Рис. 1. Содержание азотистых веществ в жидкости рубца через 24 ч после инкубации *in vitro*, мг/%

Содержание общего азота в рубцовой жидкости III группы было на 36,4 мг/%, 37,8 и 35,0 мг/% больше, чем в контрольной, I и II группах соответственно. Наибольшим содержанием белкового азота в пробе отличилась также III группа, так, по данному показателю она превосходила контрольную на 35,35 мг/%. Рубцовая жидкость от

II группы хоть и менее значительно, но превосходила контрольные показатели по общему и небелковому азоту на 1,4 и 2,45 мг/%.

Внесение различных доз жмыха конопляного в образец с концентрированным кормом оказало заметное влияние на интенсивность микробиологических процессов (рис. 2).

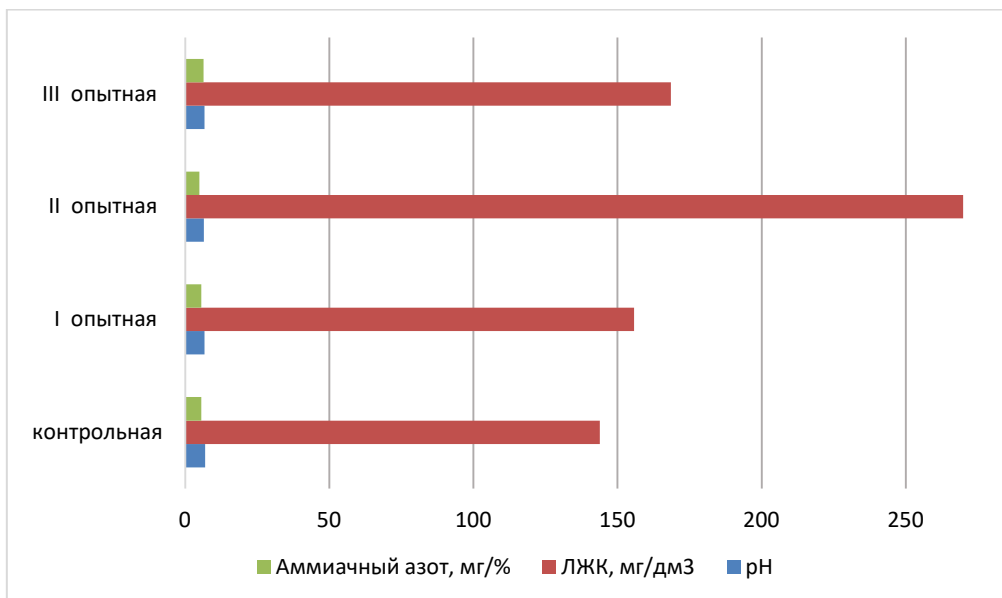


Рис. 2. Состав содержимого рубцовой жидкости через 24 ч после инкубации *in vitro*

Значения pH в испытуемых группах варьировались в пределах 6,5–6,9 и зависели от концентрации летучих жирных кислот (ЛЖК) в образцах. Концентрация ЛЖК в образцах через 24 часа после инкубации *in vitro* со средней дозировкой жмыха конопляного составляла 269,93 мг/дм³, что на 126,1 мг/дм³ (87,6 %) превысило уровень в контрольной группе. Наши данные согласуются с исследованиями, в которых статических различий между тестируемыми субстратами для значений pH не выявлено. Производство летучих жирных кислот различалось между субстратами. В частности, SO показал самое низкое значение общих летучих жирных кислот – tVFA

(75,58 ммоль / г ОМ; $p \leq 0,01$) и самые высокие значения жирные кислоты с разветвленной цепью – BCFA (9,60 % VFA; $p \leq 0,01$) и N-NH₃ (62,69 мг/г ОМ; $p \leq 0,01$) [9].

Контрольный образец по накоплению ЛЖК в рубцовой жидкости уступал I и III группам на 8,28 и 17,14 %. Наибольшее количество аммиачного азота отмечалось в рубцовой жидкости из III группы – на 0,7 мг/г относительно контроля.

Биомасса рубцовой жидкости контрольной группы (зерно ячменя) после 24-часовой инкубации в искусственном рубце состояла в большей степени из бактерий и в меньшей степени из простейших в соотношении 1:1,69 (табл. 2).

Таблица 2

Биомасса микроорганизмов рубцовой жидкости, г/100 мл

Группа	Бактерии	Простейшие
Контрольная	2,234±0,006	1,32±0,015
I	1,746±0,013*	1,64±0,015
II	1,712±0,008	2,01±0,017
III	3,166±0,027*	3,16±0,016**

*P ≤ 0,05; **P ≤ 0,01.

Сравнительный анализ данных (*in vitro*) свидетельствует, что внесение жмыха конопляного в I–III группах в дозе 33–65 мг в расчете на 250 мг образца способствовало повышенному росту биомассы. Так, данные таблицы показывают, что внесение максимального количества изучаемой добавки (III группа) способствовало лучшему развитию бактерий в рубцовом содержимом – на 41,71 % по сравнению с базовым вариантом.

Что касается простейших, то здесь наблюдается последовательное увеличение их количества во всех опытных группах: на 24,24 %; 52,27 и 139,39 % в сравнении с контролем.

Как сообщали [10], шрот из конопляного масла, полученный механической экстракцией масла, можно считать отличным природным источником нерасщепляемого белка рубца. Эти авторы включали шрот из конопляного масла в рацион для овец (20 % DM) и не наблюдали вредного эффекта.

Ряд ученых изучали *in vitro* распадаемость различных частей растения конопли (цельные растения, стебли, необработанные женские цветы, цельные семенные головки, высушенные листья, мякина и обработанные женские цветы). Они пришли к выводу, что семенные головки, мякина и листья имели наименьшее количество неразлагаемого протеина после 240 ч инкубации, и наблюдали процент разлагаемости, аналогичный зарегистрированному в этом исследовании. Что касается кинетики ферментации, все субстраты показали максимальную скорость ферментации (мл/ч) в первые 5 ч инкубации и после того, как она быстро уменьшилась в течение 20 ч инкубации [11].

Кроме того, более высокие значения аммиака были значительно связаны с содержанием белка (BCFA против CP: $r = 0,813$, $p \leq 0,05$ и N-NH₃ против CP: $r = 0,727$, $p \leq 0,05$), как описано, это может быть связано со специфическим профилем аминокислот [12].

Заключение. Исследования *in vitro* свидетельствуют о положительном влиянии на переваримость (до 4,82 %), содержание азотистых метаболитов (до 12,5 %) и биомассу микроорганизмов рубца (от 41,71 %) введения жмыха конопляного к концентрированным кормам в диапазоне 14–26 %.

Список источников

1. Evaluation of effects of rumen fluid in combination with probiotic preparations and vanillin on the luminescence of a recombinant strain *E. coli* / I. Karimov [et al.] // E3S Web of Conferences, 2020. 143. 02034. DOI: 10.1051/e3sconf/202014302034.
2. Andre C.M., Hausman J.F., Guerriero G. *Cannabis sativa*: the plant of the thousand and one molecules // Frontiers in Plant Science 7. 2016. P. 19. DOI: 10.3389/fpls.2016.00019.
3. Influence of hempseed cake and soybean meal on lipid fractions in bovine *M. longissimus dorsi* / T. Turner [et al.] // Acta Agriculturae Scandinavica Section A – Animal Science. 2008. 58 (3). P. 152–160. DOI: 10.1080/09064700802492354.
4. The seed of industrial hemp (*Cannabis sativa* L.): Nutritional quality and potential functionality for human health and nutrition / B. Farinon [et al.] // Nutrients. 2020. 12. P. 1935. DOI: 10.3390/nu12071935.
5. Klir Ž., Novoselec J., Antunović Z. An overview on the use of hemp (*Cannabis sativa* L.) in animal nutrition // Poljoprivreda. 2019. 25. P. 52–61.
6. Бямба Д., Билтуев С.И., Жамьянов Б.В. Нагульная способность и мясная продуктивность чистопородного и помесного молодняка при подкормке рапсовым жмыхом // Вестник КрасГАУ. 2018. № 6 (141). С. 71–74.
7. Mourot J., Guillevic M. Effect of introducing hemp oil into feed on the nutritional quality of pig meat // OCL. 2015. 22(6). DOI: 10.1051/ocl/2015035.
8. Characterization of byproducts originating from hemp oil processing / M. Pojić [et al.] // Journal of Agricultural and Food Chemistry. 2014. 62 (51). P. 12346–12442. DOI: 10.1021/jf5044426.
9. Chemical and nutritional characteristics of *Cannabis sativa* L. co-products / A. Vastolo [et al.] // J Anim Physiol Anim Nutr. 2021. 105 (Suppl. 1):1–9. DOI: 10.1111/jpn.13557.
10. Mustafa F., McKinnon J.J., & Christensen D.A. The nutritive value of hemp meal for ruminants // Canadian Journal of Animal Science. 1999. 79. P. 92–95. DOI: 10.4141/A98-031.
11. Nutrient concentrations, digestibility, and cannabinoid concentrations of industrial hemp plant components / M.D. Kleinhenz [et al.] // Applied Animal Science. 2020. 36. P. 489–494.
12. Intestinal luminal nitrogen metabolism: Role of the gut microbiota and consequences for the host / A.M. Davila [et al.] // Pharmacological Research. 2013. 68. P. 95–107. DOI: 10.1016/j.phrs.2012.11.005.

References

1. Evaluation of effects of rumen fluid in combination with probiotic preparations and vanillin on the luminescence of a recombinant strain *E. coli* / I. Karimov [et al.] // E3S Web of Conferences, 2020. 143. 02034. DOI: 10.1051/e3sconf/202014302034.
2. Andre C.M., Hausman J.F., Guerriero G. *Cannabis sativa*: the plant of the thousand and one molecules // *Frontiers in Plant Science* 7. 2016. P. 19. DOI: 10.3389/fpls.2016.00019.
3. Influence of hempseed cake and soybean meal on lipid fractions in bovine *M. longissimus dorsi* / T. Turner [et al.] // *Acta Agriculturae Scandinavica Section A – Animal Science*. 2008. 58 (3). P. 152–160. DOI: 10.1080/09064700802492354.
4. The seed of industrial hemp (*Cannabis sativa* L.): Nutritional quality and potential functionality for human health and nutrition / B. Farinon [et al.] // *Nutrients*. 2020. 12. P. 1935. DOI: 10.3390/nu12071935.
5. Klir Ž., Novoselec J., Antunović Z. An overview on the use of hemp (*Cannabis sativa* L.) in animal nutrition // *Poljoprivreda*. 2019. 25. P. 52–61.
6. Vyamba D., Biltuev S.I., Zham'yanov B.V. Nagul'naya sposobnost' i myasnaya produktivnost' chistoporodnogo i pomesnogo mladnyaka pri podkormke rapsovyim zhmyhom // *Vestnik KrasGAU*. 2018. № 6 (141). S. 71–74.
7. Mourot J., Guillevic M. Effect of introducing hemp oil into feed on the nutritional quality of pig meat // *OCL*. 2015. 22(6). DOI: 10.1051/ocl/2015035.
8. Characterization of byproducts originating from hemp oil processing / M. Pojić [et al.] // *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2014. 62 (51). P. 12346–12442. DOI: 10.1021/jf5044426.
9. Chemical and nutritional characteristics of *Cannabis sativa* L. co-products / A. Vastolo [et al.] // *J Anim Physiol Anim Nutr*. 2021. 105 (Suppl. 1):1–9. DOI: 10.1111/jpn.13557.
10. Mustafa F., McKinnon J.J., & Christensen D.A. The nutritive value of hemp meal for ruminants // *Canadian Journal of Animal Science*. 1999. 79. P. 92–95. DOI: 10.4141/A98-031.
11. Nutrient concentrations, digestibility, and cannabinoid concentrations of industrial hemp plant components / M.D. Kleinhenz [et al.] // *Applied Animal Science*. 2020. 36. P. 489–494.
12. Intestinal luminal nitrogen metabolism: Role of the gut microbiota and consequences for the host / A.M. Davila [et al.] // *Pharmacological Research*. 2013. 68. P. 95–107. DOI: 10.1016/j.phrs.2012.11.005.

Статья принята к публикации 04.10.2022 / The article accepted for publication 04.10.2022.

Информация об авторах:

Константин Сергеевич Денисенко¹, магистрант отдела кормления сельскохозяйственных животных и технологии кормов им. С.Г. Леушина

Галимжан Калиханович Дускаев², первый заместитель директора, доктор биологических наук, профессор РАН

Баер Серекпаевич Нуржанов³, старший научный сотрудник отдела кормления сельскохозяйственных животных и технологии кормов им. С.Г. Леушина, доктор сельскохозяйственных наук

Information about the authors:

Konstantin Sergeevich Denisenko¹, Master Student at the Department of Feeding Farm Animals and Feed Technology named after S.G. Leushin

Galimzhan Kalikhanovich Duskaev², First Deputy Director, Doctor of Biological Sciences, Professor of the Russian Academy of Sciences

Baer Serekpavich Nurzhanov³, Senior Researcher, Department of Farm Animal Feeding and Feed Technology named after S.G. Leushin, Doctor of Agricultural Sciences