

УДК 636.2.082

DOI:10.25687/1996-6733.prodanimbiol.2025.2.54-70

**СИСТЕМНО-КИНЕТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ПРОЦЕССОВ ФЕРМЕНТАЦИИ
КРАХМАЛА И СИНТЕЗА МИКРОБИАЛЬНОГО БЕЛКА В РУБЦЕ:
ПИЛОТНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ НА МОДЕЛИ**

Черепанов Г.Г.

*ВНИИ физиологии, биохимии и питания – филиал ФИЦ
животноводства – ВИЖ им. Л.К. Эрнста, Боровск Калужской обл.,
Российская Федерация*

Актуальной задачей в области протеинового питания высокопродуктивного молочного скота является обеспечение синхронного поступления в рубцовую жидкость продуктов ферментации размолотого зерна и азота аммиака при использовании кормовых добавок мочевины. Обеспечение такой синхронности осложняется нестационарностью процессов в первые часы после кормления, при этом значительные отклонения от оптимального соотношения их скоростей снижают эффективность синтеза высокоценного микробного белка. Для рационального решения этой технологической задачи перспективно применение методологии системной биологии, ставящей целью разработку алгоритмов количественного анализа динамики сложных биологических систем. Цель данного исследования – разработка алгоритмов анализа динамики ферментации частиц зернового компонента комбикорма и синтеза микробного белка в рубце в условиях *in vivo* с использованием кинетических параметров, оцененных ранее по экспериментальным данным, полученным в экспериментах *in vitro*. Отдельные этапы исследования были выполнены ранее, при этом были определены кинетические параметры основных скорость-лимитирующих процессов – резорбции твёрдых частиц эндосперма зерновок и расхода глюкозы в направлении образования CO₂, синтеза микробного белка и продукции ЛЖК. Для оценки скорости синтеза микробного белка использовалось соотношение 2.4 мг глюкозы на 1 мг синтезируемого белка. Прогнозируемое количество микробного белка на голову за первые часы после кормления составило около 800 г (1,6 кг при двукратном кормлении). Заключение о перспективности продолжения исследований с проведением ряда дополнительных анализов (гранулометрический анализ размолотого зерна, определение кинетических параметров в условиях *in vitro* и др.).

Ключевые слова: рубец, метаболизм углеводов, моделирование, кинетические параметры, ферментация крахмала, образование CO₂, синтез микробного белка.

Проблемы биологии продуктивных животных. 2025. 2: 54-70.

Введение

Основным энергетическим компонентом концентрированных кормов для крупного рогатого скота является крахмал, содержание которого в зерне пшеницы в среднем составляет 60% от сухого вещества; а в эндосперме зерна оно может варьировать от 80 до 100%. Для повышения переваримости зернового компонента производится дробление или размол зерна до определённого предела, так как отклонения от оптимальной степени измельчённости отрицательно влияют на эффективность ферментации крахмала и синтеза высокоценного микробного белка. В рубцовой жидкости происходит резорбция твёрдых частиц эндосперма

простейшими (в основном, инфузориями) с последующей микробиологической ферментацией в последовательности: крахмал – декстрин – мальтоза – простые сахара (в основном, глюкоза), которые вместе с другими субстратами подвергаются дальнейшим метаболическим превращениям с образованием газов (в основном, углекислого газа, метана и небольшого количества водорода). Образующийся CO_2 вступает в реакцию с водой, при этом происходит образование угольной кислоты и лабильного комплекса ионов H^+ и HCO_3^- ; последний с током крови поступает в лёгкие и выделяется в окружающую среду в виде CO_2 . Продукты ферментации глюкозы в рубце (пируват, из которого образуются пропионат и лактат) в печени вновь превращаются в глюкозу, которая в молочной железе используется при синтезе лактозы, лимитирующей скорость молокообразования.

Имеющийся в мировой литературе массив данных по физиолого-биохимическим аспектам метаболизма углеводов в рубце более ограничен, в сравнении с таковым по перевариванию протеина и клетчатки; большинство работ посвящено эмпирическим поискам оптимального уровня технологических параметров, в частности, по индексу измельчённости зернового компонента концентратов. Это объясняется тем, что пока отсутствуют эффективные методические приёмы и параметры для объективного контроля скорости ферментации крахмала. Использование фистулированных коров в этом отношении не эффективно для регистрации продуктов быстрой ферментации крахмала. Применение методов культивирования с использованием аппаратов типа «искусственный рубец» – это в определённом отношении более эффективный метод, но от также имеет свои ограничения. Помимо технических трудностей, это не совсем адекватный метод, в том числе по причине того, что при долговременном культивировании состав микрофлоры изменяется, а это имеет большое значение для переваримости корма.

Третий методический приём – это инкубирование рубцовой жидкости *in vitro* в течение нескольких часов в анаэробных условиях с регистрацией газообразования и накопления продуктов ферментации в культуральной среде (Богданов, 2008; Василевский, 2023). В отличие от первых двух методов, эта методика обеспечивает получение измерительных данных в динамике при сохранении «нативных» факторов микробиома рубца. При условии разработки достаточно обоснованных протоколов проведения исследования (гранулометрический анализ навесок зернового компонента, набор измеряемых показателей, выбор временных точек и т.д.) и «расшифровки» временных трендов, использование этой методики в настоящее время может обеспечить получение объективной количественной информации по актуальным проблемам физиологии рубцового пищеварения и кормления высокопродуктивных коров.

Научно-методологической базой для организации таких комплексных разработок в настоящее время служит системная (интегративная) биология – новое быстро развивающееся направление, которое на рубеже 80-х – 90-х г.г. «отпочковалось» от биоинформатики и включает в себя исследования на стыке разных наук (общей и молекулярной биологии, биохимии, физиологии и математики) и ставит целью разработку алгоритмов количественного анализа динамики сложных биологических систем. Основные этапы в проведении таких исследований включают в себя: 1. анализ проблемы; 2. первичная формулировка задачи; 3. разработка концепции и методологии её решения с использованием современных аналитических средств; 4. проведение пилотного (предварительного) исследования с построением первичных вариантов модели и получением набора выходных данных; 5. сопоставление численного прогноза с результатами проведенных опытов; 6. оценка адекватности модели и разработка рекомендаций по проведению экспериментов с расширенным списком измеряемых показателей.

Научные разработки по компьютерному моделированию метаболических систем, в том числе в области промышленного микробиологического синтеза, дают основание для применения этой методологии применительно к процессам рубцового пищеварения у высокопродуктивных коров. В разработанных ранее эскизных вариантах системно-кинетической модели рубца (Beever, 1981; Murphy et al., 1986; Baldwin et al., 1986; Черепанов, Кузина, 1989; Dijkstra et al., 1992; Neal et al., 1992; Russell, Strobel, 1993) не учитывалась роль быстропротекающих процессов

ферментации крахмала и поддержания синхронизированного поступления энергетических и азотсодержащих субстратов синтеза микробного белка. Разработка усовершенствованных методик изучения ферментации *in vitro* может обеспечить получение информации о кинетических параметрах на скорость-лимитирующих этапах с последующей разработкой имитационных моделей и прогнозированием баланса метаболических потоков, на уровне рубцового пищеварения при разных технологических воздействиях.

Цель данного пилотного исследования – разработка алгоритмов анализа динамики процессов ферментации частиц зернового компонента комбикорма и синтеза микробного белка в рубце в условиях *in vivo* с использованием кинетических параметров, оцененных ранее по экспериментальным данным, полученным в опытах *in vitro* с регистрацией газообразования при внесении в среду инкубации навесок комбикорма или мочевины.

Компартментная модель ферментации крахмала и синтеза микробного белка *in vivo*

В качестве концепции в решении поставленной задачи используется несколько исходных положений.

1. Из теории ферментативной кинетики известно, что значение параметра K_m , равное скорости при насыщающей концентрации субстрата), является постоянной величиной. Данный факт объясняется тем, что значение K_m обусловлено молекулярной структурой активного центра фермента и, в отличие от V_{max} , не зависит от условий проведения измерений. Поэтому для прогнозирования структуры метаболических потоков в разных ситуациях *in vivo* можно использовать зависимость скорости образования продукта (или утилизации субстрата), оцененную в условиях *in vitro*. В определённых ситуациях это положение применимо и для процессов, характеризующихся линейной зависимостью скорости процесса от концентрации, в том числе для процессов массопереноса типа диффузии.

2. Для решения задачи прогнозирования баланса потоков в сложных метаболических системах на основе теории компартментного анализа кардинальное значение имеет выявление «узких мест» – ключевых скорость-лимитирующих этапов. Для процесса ферментации крахмальных частиц корма таким этапом, несомненно, является резорбция крахмальных частиц, осуществляемая инфузориями жидкой фракции содержимого. Для синтеза микробного белка процесс лимитируется темпом образования энергетического субстрата (глюкозы) и наличием ресурса азота аммиака.

3. С учётом этих исходных положений, в использованной компартментной модели используются значения кинетических параметров для двух основных метаболических потоков (расход глюкозы на образование CO_2 и суммарный её поток в направлении продукции ЛЖК и синтеза микробного белка), которые были оценены ранее по данным опытов *in vitro* (Черепанов, Василевский, 2024).

Основная трудность для количественного прогнозирования процессов ферментации крахмала заключается в определении вида функции, описывающей временные тренды скорости резорбции крахмальных зёрен. Несмотря на многообразие формы таких частиц, основным фактором для общей интенсивности этого процесса является величина отношения площади поверхности частиц к их объёму. Несмотря на то, что отдельно взятые частицы молотого зерна различаются по их геометрической форме, с учётом большого их количества во взятой для культивирования навеске, в качестве модели для оценки общей тенденции реального процесса следует проанализировать процесс резорбции шарообразной частицы с радиусом R , объём которых $V = (4/3) \cdot 3.14 \cdot R^3$, площадь поверхности $S = 3.14 \cdot R^2$, так что величина отношения $d = V/S$ прямо пропорциональна радиусу, т.е. $\Delta d = 1.13 \cdot \Delta R$, поэтому величина приращения (или снижения) объёма, приходящегося на единицу площади поверхности частиц, прямо пропорциональна величине ΔR .

В опыте *in vitro* было 6 размерных классов и радиус частиц в каждом из них уменьшался со скоростью 133 мкм ($800/6=133$) за 20 минут инкубации (0,33 ч). В данном предварительном (пилотном) исследовании *in silico* значения темпов резорбции крахмальных частиц в интервале до 1 часа после кормления были адаптированы (снижены) для учёта выявленного в экспериментах (Василевский, Березин, 2024, рацион 2) положения пика продукции ЛЖК через 1 час после кормления (очевидно, коррелирующее с концентрацией глюкозы в рубцовой жидкости). Принятое в данном модельном исследовании распределение количества частиц размолотого зерна на 7 размерных классов представлено на рис. 1. Если радиус одной из самых крупных частиц разделить на столько же частей, то темпы снижения парциального объёма резорбции (объём, резорбированный за единичный интервал времени) для всех частиц в семи размерных классах будут приблизительно одинаковыми при численности популяции инфузорий, достаточной для заполнения «вакантных мест».

Для прогнозирования изучаемых процессов в условиях *in vivo* в данном исследовании применялась компартментная модель, использованная ранее для интерпретации результатов опыта *in vitro*, полученных при инкубации навески зернового компонента комбикорма в 200 мл культуральной среды (рубцовой жидкости) в анаэробных условиях с регистрацией объёма выделяемого газа (Черепанов, Василевский, 2024). Расчётная схема включает в себя 2 компартмента (пулы, фонды) и 3 метаболического потока.

Компартменты (пулы):

1. Крахмал твёрдых частиц измельчённого зерна (эндосперма зерновки), подвергающийся резорбции, V_{res} , мкм³.
2. Промежуточный продукт ферментации крахмала – простые сахара (в основном, глюкоза, а также небольшое количество фруктозы и арабинозы (далее – просто глюкоза) в определённом объёме культуральной среды.

Потоки:

1. Резорбция крахмальных зёрен → глюкоза инкубационной среды. Численные значения этого потока имеют разные значения при использовании двух размерностей: v_{res} , см³ за 0,33 часа) для обозначения выходного потока резорбции в объёмных единицах, и в мг глюкозы (v_{gl} , мг за 0,33 ч) для входного потока поступления в глюкозный пул.

2. Глюкоза → CO₂, расход глюкозы на образование CO₂, мг глюкозы за 0,33 ч ($v_{gl\ CO_2}$, мг/0,33 hr).

3. Расход глюкозы в направлении процессов метаболизма, не сопровождающихся газообразованием ($v_{gl\ met}$, мг/0,33 ч): а) расход глюкозы в качестве энергетического субстрата для синтеза микробного белка, б) для образования летучих жирных кислот.

Поскольку основной скоростью лимитирующим фактором и субъектом утилизации твёрдых частиц крахмала являются достаточно крупные организмы (инфузории), в процессе уменьшения радиуса и площади поверхности частиц при достаточно большой численности популяции инфузорий им «становится тесно», и количество «работающих» снижается пропорционально площади поверхности частиц; поэтому в такой ситуации следует ожидать, что радиус разных по объёму частиц в процессе инкубации уменьшается с одной и той же скоростью. При этом, если взять набор некоторого количества частиц разного размера и радиус одной из самых крупных частиц разделить на столько же частей, то темп снижения объёмной скорости резорбции (парциальный объём, резорбированный за единичный интервал времени) для всех частиц в наборе размолотого зерна будет описываться одной и той же функцией от времени, но с разными «сроками жизни» (табл. 3).

В качестве первого из возможных вариантов модели для оценки этой функции в данном пилотном исследовании взят набор из семи размерных классов частиц, при этом самые крупные частицы с радиусом 800 мкм полностью резорбируются за период наблюдения (2,0-2,5 часа), а сроки жизни частиц разных размерных классов определяются по нижеописанной итерационной

процедуре на интервале времени, соответствующем значениям радиуса каждой частицы на последовательных интервалах времени, равных 20 минутам (0,33 ч).

Полученные данные по динамике резорбции крахмальных зёрен можно с некоторой коррекцией использовать для оценки кинетических параметров метаболизма продукта (глюкозы). Необходимость такой коррекции связана с трудностью количественного описания начальных этапов утилизации твёрдых частиц эндосперма зерновки. Для инициации этого процесса, который на первом этапе осуществляется инфузориями, необходимо определённое время для заселения поверхности частиц, инициации резорбции и последующего брожения крахмала с образованием декстрина, мальтозы и конечного продукта ферментации – глюкозы. Поэтому расчёт парциальных объёмов резорбции в опыте *in vitro* был проведен не с нуля, а с некоторой задержкой, необходимой для установления устойчивого соотношения концентраций и потоков

Кинетические параметры ферментации крахмальных частиц нужны для идентификации взаимосвязи между концентрацией глюкозы, как основного продукта, и скоростью её утилизации в том или ином направлении. Величина v_{met} (скорость расходования глюкозы в ходе процессов, не сопровождающихся газообразованием) в опыте *in vitro* была оценена по разности между скоростью утилизации крахмала и скоростью накопления углекислого газа. Задача состояла в том, чтобы определить значения кинетических параметров в соотношениях $v_{met} = f(c_{gl})$ и $v_{CO_2} = f(c_{gl})$, описывающих взаимосвязь между концентрацией глюкозы и скоростью её превращения в тот или иной продукт.

В табл. 4 приведены значения объёмов резорбции зёрен крахмала по периодам инкубации для одного набора частиц с разными начальными значениями радиуса, т.е. для частиц, получившихся при размоле зерна. Для оценки общей скорости ферментации необходимо знать общее число таких наборов (соответствующее массе интактных зёрен за вычетом самой мелкой фракции размола). Для такой оценки в исследовании *in vitro* использовался косвенный итерационный метод (метод последовательного приближения). Для этого при переводе суммарных значений $V_{res, ml} \cdot 10^{-3}$ в единицы $V_{res, mg\ gl}$ проводилась серия перерасчётов (итераций) при разных значениях количества частиц в одном наборе; вычисления заканчивались на последней итерации после получения для $t = 2$ значения $v_{res, mg\ gl}/0.33 = 0$. Работоспособность этого метода (и, в определённой мере, правильность исходной модели и алгоритмов компартментного анализа) была оценена при сопоставлении массы навески концентрата (1,5 г) и массы продуктов (глюкозы 0,98 г + накопленного CO_2 0,2 г). Масса крахмала и объёмная доля эндосперма в зерновке могут варьировать в зависимости от сорта и условий выращивания культуры, но для проведенного рекогносцировочного исследования степень совпадения прогноза и измерительных данных можно считать достаточно хорошей.

Целью данного этапа исследования была разработка предварительной версии алгоритмов количественного анализа динамики ферментации крахмала и синтеза микробиального белка *in vivo* при использовании численных значений кинетических параметров, полученных в опыте *in vitro*. Основанием для такого методического приёма является то, что кинетические параметры обусловлены молекулярной структурой активных центров ферментов или фундаментальными закономерностями типа закона действующих масс, которые не зависят от конкретных условий проведения опыта, поэтому расчётные модели с использованием этих параметров достаточно объективно отражают количественные показатели ключевых (скорость лимитирующих) звеньев в системе изучаемых метаболических потоков.

Алгоритмы компартментного анализа

В качестве основы для последующих арифметических вычислений для прогнозирования динамики рассматриваемой компартментной системы *in vivo*, используется дифференциальное уравнение с параметрами, которые ранее были оценены в опыте *in vitro* при инкубации навески

комбикорма массой 1,5 г в рубцовой жидкости объёмом 2 дл с регистрацией выделения CO_2 (Черепанов, Василевский, 2004).

$$dc(t) * Vf/dt = v_{res}(t) - v_{co2}(t) + v_{met}(t), \dots \dots \dots (1)$$

где c – концентрация глюкозы в инкубационной среде (рубцовая жидкость), мг/100 мл, Vf – объём жидкости в децилитрах (в модельном опыте 2 дл), v_{res} – скорость резорбции крахмала, выраженная в единицах мг глюкозы за время 0,33 ч, v_{co2} – расход глюкозы в направлении образования CO_2 , v_{met} – расход глюкозы в направлении процессов, не сопровождающихся образованием CO_2 (расход глюкозы в качестве энергетического субстрата для синтеза микробного белка + продукция ЛЖК).

С математической точки зрения, если известны функция $v_{res}(t)$ и значения кинетических параметров, характеризующих динамику переменной $c_{gl}(t)$ (полученные по данным опытов *in vitro*), то решение уравнения (1), т.е. нахождение последовательности значений концентрации глюкозы по периодам времени, можно, в принципе, определить численным методом с использованием достаточно большого количества временных отсчётов и их аппроксимации по методу Рунге-Кутты. Это трудоёмкая процедура обычно используется для решения физико-технических задач, требующих высокой точности, а для данного рекогносцировочного исследования достаточно объективные данные по временным трендам можно получить с использованием упрощённой процедуры арифметических вычислений с использованием значений параметров, оцененных по данным опыта *in vitro* (рис. 2, 3).

Основное отличие от ранее изученной системы (Черепанов, Василевский 2004) в данном исследовании состояло в том, что временные тренды скорости резорбции крахмальных частиц на протяжении первого часа после кормления были модифицированы с учётом наблюдаемой в опыте задержки пика концентрации ЛЖК (Василевский, Березин, 1924, рацион 2), которая, в рамках рассматриваемой модели, пропорциональна концентрации глюкозы в рубцовой жидкости. В опыте *in vitro* скорость образования CO_2 была наивысшей в начале периода наблюдения с выходом на уровень плато приблизительно к двум часам, что соответствует экспоненциальному снижению уровня в инкубационной среде продукта ферментации (глюкозы). Наличие лаг-периода в динамике ферментации крахмала *in vivo*, с теоретических позиций, можно пытаться обосновать действием ряда причин, но в данном случае расчёты проводились, исходя из наблюдаемой величины временной задержки максимума накопления продуктов ферментации крахмала в рубцовой жидкости.

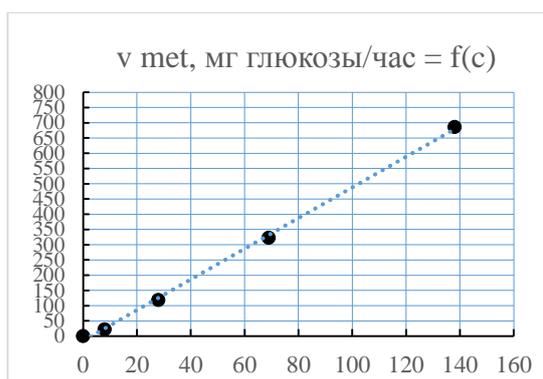


Рисунок 2. Зависимость скорости утилизации глюкозы в направлении метаболических процессов, не сопровождающихся газообразованием, от её концентрации в инкубационной среде. По оси абсцисс – концентрация глюкозы, мг/100мл (по данным опыта *in vitro*).

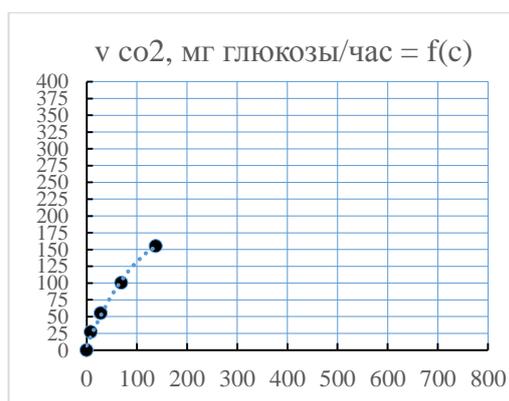


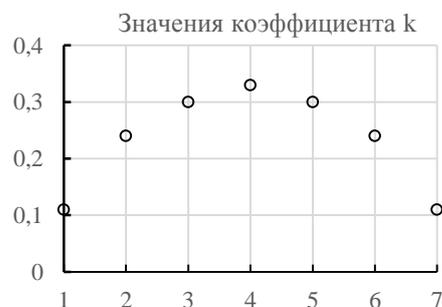
Рисунок 3. Зависимость скорости утилизации глюкозы в направлении продукции CO_2 от её концентрации в среде. По оси абсцисс – концентрация глюкозы, мг/100 мл $V_{max} = 260$ мг/час, $K_m = 90$ мг/100 мл (5 мМ) (по данным опыта и *in vitro*).

Относительно одной из возможных причин лаг-периода в динамике ферментации зёрен крахмала можно предположить наличие диспропорции между функциональной активностью инфузорий в рубцовой жидкости и массой крахмала в составе задаваемого комбикорма. В опыте *in vitro* навеска комбикорма, как источника крахмала, составляла 0,75 г в 100 мл; это приблизительно в 3 раз меньше количества задаваемого дойным коровам комбикорма на голову в пересчёте на 1 дл рубцовой жидкости. Конечно, одного часа недостаточно для увеличения количества инфузорий, но за это время могли значительно увеличиться их размеры (они варьируют от 20 до 200 мкм) в процессе клеточного роста, стимулированного поступлением дополнительного энергетического ресурса. Можно предположить, что в опыте *in vitro* количество инфузорий на момент начала измерений было достаточное для быстрого заполнения вакантных мест на поверхности частиц, и вследствие этого радиус частиц уменьшался на последовательных интервалах времени с одной и той же скоростью (0,133 мкм за 0,33 ч), что было причиной приблизительно экспоненциального снижения объёмной скорости резорбции (Черепанов, Василевский, 2004). В исследовании *in vivo* для этого понадобилось почти 1,5 часа.

Поскольку основные кинетические параметры, были идентичными, в данном исследовании расчёт динамики процессов проводился в расчёте на 100 мл рубцовой жидкости по такому же алгоритму, как и в исследовании *in vitro*, т.е. остальные показатели считались такими же, как *in vitro*, за исключением количества размерных классов частиц (7 вместо 6) и поправочных коэффициентов (рис. 1). Численные значения и распределение парциальных скоростей резорбции крахмальных зёрен (табл. 1) подбирались по методу последовательного приближения, исходя из условия равенства суммы парциальных объёмов резорбции для семи размерных классов величине объёма самой крупной частицы ($R = 800$ мкм) и прогнозируемого положения максимума концентрации глюкозы (≈ 1 час). Это условие в реальном эксперименте выполняется автоматически, а трудоёмкая итерационная процедура понадобилась для проведения пилотного исследования *in silico* (на модели).

Рисунок 1. Значения поправочного коэффициента для парциальных объёмов резорбированного крахмала V_{res} .

	R, мкм	k
1	800	0,11
2	700	0,24
3	600	0,3
4	500	0,33
5	400	0,3
6	300	0,24
7	200	0,11



Примечание: условием подбора значений k было равенство суммы парциальных объёмов для частиц разных размерных классов (2120, табл. 2) и общего объёма одной частицы с начальным радиусом $R_0 = 800$ мкм (2145).

Таким образом, основное отличие от ранее изученной кинетической модели (Василевский, Черепанов, 2004) в данном случае состояло в том, что временные тренды скорости резорбции крахмальных частиц на протяжении первого часа после кормления были модифицированы с учётом наблюдаемой задержки пика концентрации ЛЖК, которая, в рамках рассматриваемой модели, пропорциональна концентрации глюкозы в рубцовой жидкости:

В табл. 1 представлены исходные данные и результаты расчёта парциальных объёмов резорбции крахмала по периодам инкубации для семи размерных классов частиц с учётом неравномерности их распределения.

По итогам этого расчёта были определены значения суммарных объёмов резорбции крахмала по периодам инкубации (суммы парциальных объёмов для семи классов частиц с разными начальными значениями радиуса; табл. 2)

Суммарный объём резорбции крахмала по периодам инкубации в пределах ошибки округления практически равен начальному объёму исходной крупной частицы (2120 и 2140 соответственно). Это указывает на правильность подбора на модели значений поправочного коэффициента (рис. 1) и интервалов снижения размеров частиц за последовательные промежутки времени 0,33 часа. В реальных условиях это выполняется «автоматически», а выявленное в данном пилотном исследовании наличие такой взаимосвязи указывает на то, что проведение гранулометрического анализа в процессе кормопроизводства и при контроля качества концентратов является необходимым этапом, также как и при проведении научных экспериментов.

Для численного прогнозирования динамики изучаемой компартментной системы, дифференциалы в левой части уравнения (1) заменяются конечными разностями Δc и Δt , при этом в модели, описывающей поведение системы *in vivo*, в интервале повышающихся значений концентрации $\Delta c = c_{i+1} - c_i$, а в период снижения концентрации $\Delta c = c_i - c_{i+1}$ (i – обозначение строк), $\Delta t = 0.33$.

$$\Delta c = c_{i+1} - c_i = (v_{res\ i+1} - v_{co2\ i+1} - v_{met\ i+1}) * 0,165 \quad (2)$$

Здесь величина 0,165 вместо 0,33 используется для правильной оценки концентрации глюкозы в единицах мг/100 мл, так как объём инкубационной среды в опыте *in vitro* составлял 200 мл. Значения v_{co2} и v_{met} определяются по точечным диаграммам, построенным по данным опыта *in vitro* (Черепанов, Василевский, 2024); $v_{met} = 5 * c(t)$, $v_{co2} = 260 * c / (90 + c)$ (рис. 2, 3).

При $t = 0$ $c_0 = 0$,
 при $t = 0,33$ $c_1 = v_{res1} * 0.165$,
 при $t = 0,67$ $c_2 = c_1 + (v_{res\ 1} - v_{co2\ 1} - v_{met\ 1}) * 0.165$, и т.д.

Таблица 1. Расчёт парциальных объёмов резорбции крахмала по периодам инкубации для шести размерных классов частиц с учётом неравномерности их распределения.

t, час	R, мкм	V res, мкм ³ *10 ⁴	Δ *0,1	Δ *0,23	Δ *0,3	Δ *0,33
0	800	2145				
0,33	795	2105	40	4	117	27
0,67	775	1950	155	15	551	127
1	700	1437	513	51	577	133
1,33	590	861	577	58	550	127
1,67	465	421	616	62	245	56
2	343	169	252	25	63	15
2,33	221	45	124	12		
2,67	99	4	41			

Продолжение таблицы 1. Расчёт парциальных объёмов резорбции крахмала по периодам инкубации для шести размерных классов частиц с учётом неравномерности их распределения

t	R, мкм	V res, мкм ³ *10 ⁴	Δ *0,3	Δ *0,23	Δ *0,1
0	800	2145			
0,33	795	1988	550	165	245
0,67	775	1437	245	73	63
1,0	700	830	63	19	6

Данные табл. 2 были использованы для оценки кинетических параметров ферментации крахмала и синтеза микробного белка в условиях *in vivo* (табл. 3). Для получения расчётных величин для первых пяти столбцов использовались модифицированные значения скорости ферментации крахмальных частиц для учёта задержки максимума уровня (глюкозы), в ст. 11 расход глюкозы в направлении синтеза белка, мг/час; был оценен на уровне 3/4 от общего расхода глюкозы в направлении синтеза белка + ЛЖК (ст. 7) за вычетом расхода глюкозы на образование CO₂.

Таблица 2. Расчёт суммарных объёмов резорбции крахмала по периодам инкубации (суммы парциальных объёмов для семи классов частиц с разными начальными значениями радиуса).

t	Δ*0,1	Δ*0,23	Δ*0,3	Δ*0,33	Δ*0,3	Δ*0,23	Δ*0,1	
0,33	4	27	165	190	165	56	6	231
0,67	15	127	173	182	73	14		485
1	51	133	165	81	19	70		595
1,33	58	127	73	21	257			474
1,67	62	56	19	474				257
2	26	15	595					70
2,33	15	485						6
2,67	231							Σ = 2120

Таблица 3. Исходные данные и результаты модельного прогноза скорости резорбции твёрдых гранул крахмала в зерновом компоненте комбикорма и синтеза микробного белка в условиях *in vivo*.

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
t, hr	v res	ml	v res	*3	c gl	pr+ met		co 2		gl pr	per cow		
	/0,33	mg /dl	mg/dl		mg/dl		*0,33	mg gl /hr	*0,33	-0,75	g/hr	*0,33	/2,4
0,67	231	0,231	105	315	52	220	73	95	31	165	330	109	104
1	485	0,485	221	662	104	523	173	139	46	392	785	259	165
1,33	595	0,595	271	812	129	658	217	154	51	494	987	320	130
1,67	474	0,474	216	647	104	508	168	139	46	381	762	251	101
2	257	0,257	117	351	43	267	88	84	28	200	400	132	53
2,33	70	0,07	32	96	10	96	32		0	72	143	47	19
2,67	7		0	0									
			974				750		202			1125	452

Обозначения табуляции:

1 – время после кормления, час,

2– общая скорость резорбции частиц по семи размерным классам, мкм*10⁻⁴ за 0,33 ч,

3 – то же, см³/0,33,

4 – общая скорость резорбции по глюкозе для семи размерных классов, мг глюкозы за 0,33 ч,

5 –то же в мг глюкозы/час,

6 – концентрация глюкозы в рубцовой жидкости, мг/100 мл (методика расчёта см. ниже);

7 – расход глюкозы в направлении синтез белка + ЛЖК, общая скорость по п. 5 (см. рис. 2) за вычетом расхода глюкозы на образование со₂, мг/час;

8 – то же, * 0,33 (по п. 5 за вычетом расхода на образование со₂), за 0,33 ч;

9. – расход глюкозы на образование со₂ по соотношению: 260*с гл/(90+с гл), см рис. 3, мг/час;

10 – то же, мг за 0,33 ч;

11. – расход глюкозы в направлении синтеза белка (п. 5 *0,75; см. ст. 8), мг/час;

12 – то же в расчёте на голову (п. 11*600/1000*3,3), г/час;

13 –то же. г/0,33 ч

14 – скорость синтеза микробного белка г (ст. 13/2,4, см. ниже), г белка за 0,33 ч (сумма = 452 г при одном кормлении, приблизительно 900 г при двукратном кормлении).

Итоговые показатели в последних столбцах (12, 13, 14) выражены в расчёте на голову (с учётом поправки на трёхкратное различие по массе навески комбикорма в 100 мл инкубационной среды (рубцовая жидкость) в опыте *in vitro* (0,75 г на 100 мл) и разовой дачи комбикорма дойным коровам (2 кг на 6000 дл жидкой фракции содержимого рубца) *in vivo*.

Итоговый показатель прироста массы микробного белка составил 452 г за одно кормление, т.е. 900 г при двукратном кормлении. При этом в расчётах предполагалось поступление азота из «защищённой мочевины», адекватное объёму прироста микробного белка, оцененному по потоку глюкозы с коэффициентом $1/0,24 = 0,42$. Для объективной оценки адекватности поступления азота, т.е. для оценки синхронности поступления энергетического субстрата и азота при синтезе белка необходимо провести дополнительные исследования *in vitro* с регистрацией газообразования (накопления аммиака в газхолтере) и концентрации белка в инкубационной среде с последующим построением точечных диаграмм и определением кинетических параметров для азотистых компонентов компартментной модели (Черепанов, Березин, 2023).

Прогнозируемая динамика метаболических потоков в исследованной компартментной модели представлена в виде точечных диаграмм на рис. 4-8 (по оси абсцисс – время после кормления, час).

Для количественной оценки влияния уровня в рубцовой жидкости глюкозы, как основного энергетического субстрата для синтеза микробного белка, в рамках представленной кинетической модели необходимо знать величину расхода глюкозы в мг в расчёте на мг синтезируемого белка. В доступной литературе отсутствуют прямые оценки этого параметра, есть только некоторые косвенные данные. Известно, что при окислительном распаде 1 г белка выделяется 4,1 ккал. С учётом калорийности 100 г глюкозы (385 ккал) получается примерно 1 мг глюкозы на мг синтезируемого белка.

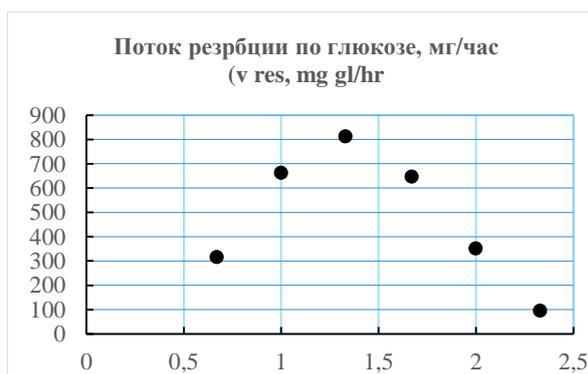


Рис. 4. Скорость резорбции крахмальных зёрен в единицах потока образования глюкозы, мг/час в расчёте на 100 мл рубцовой жидкости (прогноз по модели)

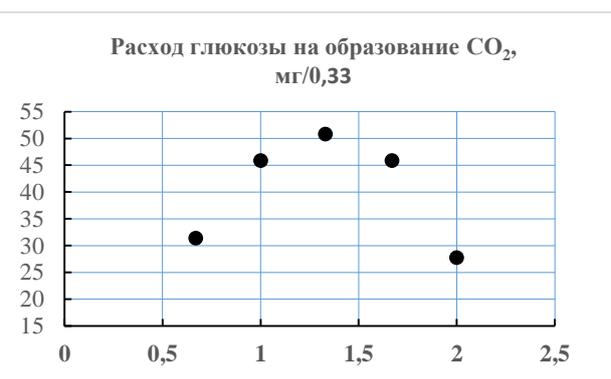


Рис. 5. Поток глюкозы в направлении образования CO₂ мг/0,33 ч в расчёте на 100 мл рубцовой жидкости прогноз по модели) (прогноз по модели).

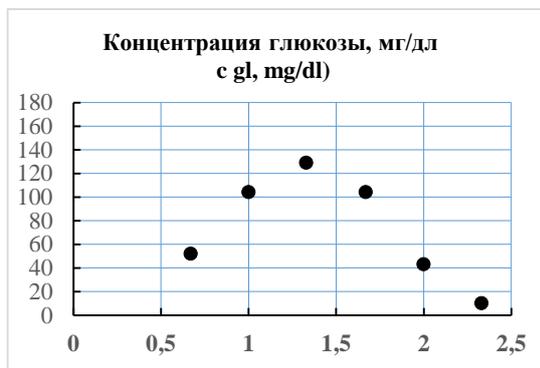


Рис. 6. Прогнозируемая динамика концентрации глюкозы в рубцовой жидкости, мг/дл.

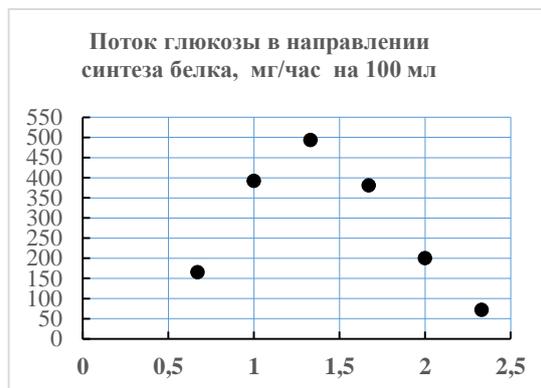


Рис. 7. Прогнозируемая динамика расхода глюкозы в направлении синтеза микробного белка, мг/час на 100 мл.

Есть сведения, что для образования одной пептидной связи требуется 12 кДж/моль. Средняя молярная масса аминокислот равна 110 г, 1 кДж = 0,24 ккал. При образовании новой пептидной связи остаётся та же величина 110 г, т.е. требуется 0,0000264 ккал на 1 мг белка с одной п. св., а добавление новых (в среднем, в белке 350 пептидных связей) даёт величину 0,00924 ккал на 1 мг белка с 350 п. св. В итоге, $0,00924/0,00385 = 2,4$, т.е. для получения 1 мг синтезируемого микробного белка требуется 2,4 мг глюкозы (табл. 4, последний столбец).

Пластического ресурса для синтеза такого количества белка не требуется, так как в рубцовой жидкости имеется достаточный ресурс заменимых свободных аминокислот. По-видимому, поступление глюкозы необходимо для обеспечения роста популяции микробиоты незаменимыми аминокислотами (при условии достаточного поступления источника неорганического азота).

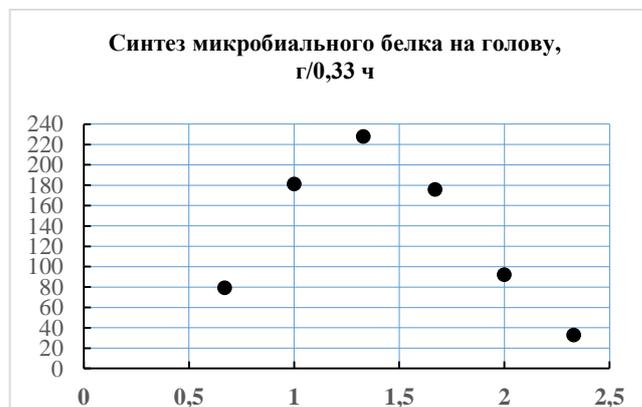


Рис. 8. Скорость синтеза микробного белка на голову, г/0,33 ч (прогноз по модели в предположении адекватного поступления азота аммиака).

В рассмотренную компартментную модель нетрудно включить два дополнительных пула – аммиак и ЛЖК. Для этого необходимо провести измерения в опыте *in vitro* для получения исходных данных с целью оценки кинетических параметров для этих пулов, аналогично представленным на рис. 2 и 3. В цитированной ранее работе (Василевский, Березин, 2024) в качестве источника азота применялась «защищённая мочевины», при этом выявлено снижение уровня аммиака в рубцовой жидкости через 1 час после кормления. Это можно интерпретировать

в том плане, что мочевины была настолько «защищена», что в момент максимума концентрации энергетического субстрата создавался дефицит источника азота; при этом определённая часть глюкозы вынужденно использовалась «не по назначению» (не на синтез белка), так как в этой ситуации снижение концентрации азота аммиака (второго субстрата для синтеза микробного белка) неизбежно, по закону действующих масс, отрицательно повлияет на выход продукта. Если ставится целью обеспечение синхронного поступления пластического и энергетического субстратов синтеза белка, то более рационально в этой ситуации, возможно, было бы использовать обычный карбамид в определённой дозировке, рассчитанной по компартментной модели с использованием значений кинетических параметров, оцениваемых по данным опыта *in vitro* (Черепанов, Березин, 2023). Это даст возможность спрогнозировать необходимое количество азота аммиака, которое, вероятно, пропорционально скорости синтеза микробного белка, оцененной по потоку глюкозы в этом направлении (ст. 11 в табл. 3).

Обсуждение результатов

Процесс ферментации крахмала многостадийный, поэтому правильный прогноз выхода конечного продукта возможен лишь при условии, что в модели представлено адекватное описание скорость-лимитирующего звена. Полученные данные свидетельствуют о том, что скорость-лимитирующим процессом в системе ферментации крахмала является относительно медленная резорбция инфузориями твёрдых зёрен крахмала в эндосперме зерновки, а последующие процессы бактериального брожения с образованием декстрина, мальтозы и моносахаридов не лимитируют темпы газообразования и утилизации глюкозы в процессах рубцового метаболизма,

Зависимость скорости утилизации глюкозы в направлении продукции CO_2 от её концентрации в среде (рис. 3) хорошо аппроксимируется функцией Михаэлиса-Ментен для ферментативной кинетики: $v = V_{\max} * c / (K_m + c)$, в которой параметр V_{\max} (максимальная скорость при избытке субстрата) зависит не только от «работоспособности» фермента, но и от условий измерения, а параметр K_m определяется только молекулярной структурой активного центра фермента. То, что скорость продукции CO_2 характеризуется тенденцией к переходу на уровень плато по мере увеличения концентрации субстрата, может иметь значение для использования этого показателя для оценки скорости ферментации углеводов в рубце (этот показатель становится неинформативным при высокой концентрации глюкозы в рубцовой жидкости).

Выявленный линейный тренд для зависимости $v_{\text{мет}}$ (скорости утилизации глюкозы в направлении метаболических процессов, не сопровождающихся газообразованием), от концентрации глюкозы в инкубационной среде, возможно, обусловлен тем, что значение K_m для этого процесса более высокое, по сравнению с процессом газообразования, а на начальных интервалах концентрации субстрата функция Михаэлиса-Ментен всегда имеет форму приблизительно линейного тренда.

В качестве одного из источников возможных ошибок модели можно рассматривать наличие двухфазной динамики газообразования при инкубировании навески комбикорма вместе с образцом грубого корма (Черепанов, Василевский, 2003). В рамках выбранной модели «быстрая» фаза интерпретировалась как выход накопленного объёма CO_2 на уровень плато по причине исчерпания ресурсов крахмала в частицах размолотого зерна. Уточнить этот аспект модельного описания можно, повторив опыт без внесения навески грубого корма. В таком эксперименте, если он подтвердит адекватность использованной модели, можно уточнить момент исчерпания депо крахмала в частицах размолотого эндосперма зерновки. По предварительным данным, небольшая коррекция момента выхода объёма накопленного газа на уровень плато (3 часа вместо 2-х) не оказывает существенного влияния на численные оценки параметров ферментации.

Дополнительного экспериментального обоснования нуждаются также использованные в данной работе алгоритмы оценки численности частиц и неравномерности их распределения по размерам. Для оценки степени измельченности и неравномерности распределения частиц по размерам в настоящее время можно использовать портативные лазерные гранулометры. Методику инкубирования образцов корма в рубцовой жидкости целесообразно усовершенствовать для контроля не только газообразования, но и для анализа динамики биохимического и микробиологического состава среды по периодам наблюдения. В дальнейшем эту методику необходимо превратить в рутинный метод анализа ввиду многообразия факторов, влияющих на процессы ферментации крахмала и синтеза микробного белка.

Заслуживает внимания и обсуждение общих аспектов методологии планирования экспериментов по изучению физиологических процессов в нестационарном состоянии, когда измеряемые показатели фиксируются в динамике, т.е. состояние системы описывается набором кривых в координатах измеряемый показатель – время. Для таких систем зачастую оказываются, по меньшей мере, бесполезными обычные методики статистической обработки вариационных рядов. С другой стороны, при попытках применить адекватные методы для анализа полученных данных, нередко уже *post factum* выявляются ошибки, допущенные на этапе планирования эксперимента, в том числе по выбору измеряемых показателей, объёму выборки, необходимому количеству отсчётов (интервалов времени между измерениями) и т.д. Нередко при этом оказывается, что ошибок в планировании опыта можно было избежать при условии предварительной проработки различных вариантов опыта *in silico* на основе простейшей динамической модели (Петров и др., 2024),

Значение знаний и компетенций в области современных методов планирования эксперимента и анализа данных хорошо понимают менеджеры компаний, повседневно имеющих дело с задачами оптимизации технологических процессов; на таких предприятиях имеются группы высококвалифицированных аналитиков данных («системщиков»), работающих в тесном контакте с профильными специалистами. Опыт, накопленный в таких «продвинутых» компаниях, целесообразно использовать при планировании и проведении научно-исследовательских работ по проблемам регуляции метаболизма и продуктивности высокоудойного молочного скота.

Для решения задач оптимизации биотехнологических процессов, в том числе протекающих на установках (ферментёрах) для микробиологического синтеза биологически активных субстанций, используются имитационные мультикомпарментные модели. С математической точки зрения они представляют собой модели локализованного обмена, выраженные системой совместных дифференциальных уравнений, однако, для создания имитационной модели сложного биологического процесса, одной лишь математической компетенции исследователя недостаточно, так как он сразу сталкивается с проблемой множественности действующих факторов. С другой стороны, наличие скорости лимитирующих звеньев в метаболических путях, а также многочисленных гомеостатических механизмов и клеточных ауторегуляторов в ряде случаев упрощает формализацию описания применительно к системам метаболизма (Черепанов, 1998). Необходимым условием для снятия ограничений, связанных с проблемой множественности факторов, является достаточная теоретическая проработка проблемы, включающая изучение имеющейся в поисковых системах новейшей информации по комплексу научных направлений (физиология, биохимия, общая и молекулярная биология, математика), тогда как сами по себе данные эмпирического исследования, представленные в виде «вариационных рядов» и межгрупповых различий, в данной ситуации не могут дать ничего иного, кроме регрессий и корреляций.

Система регуляторных взаимодействий в процессах метаболизма проявляет себя в сдвигах размеров пулов и скоростей потоков; взаимосвязь между пулами и потоками подчиняется законам ферментативной кинетики, скорость ферментативной реакции определяется свойственным для каждого фермента набором значений кинетических параметров,

известных по результатам специальных исследований. Поэтому для решения оптимизационных задач вначале на основе имеющихся знаний и ранее полученных измерительных данных создаётся имитационная модель с набором параметров активности ферментов на ключевых (скорость – лимитирующих) этапах; затем её поведение изучается *in silico*. На этом этапе выявляется, какие аспекты требуют получения дополнительных измерительных данных и проведения опытов *in vitro*. После завершения этих предварительных этапов в рабочий вариант модели необходимо ввести исходные данные по текущим технологическим показателям и воздействиям (дозы вводимых веществ, рН, концентрации субстратов для получения конечных продуктов и т.д.) и запустить программу итерационных расчётов для прогнозирования сдвигов в системе метаболических пулов и потоков. Критерием правильности (адекватности) модели и надёжности прогноза является степень совпадения расчётных и фактических данных, оцененная ранее при разных технологических режимах.

В исследованиях рубцового пищеварения у высокопродуктивных коров в настоящее время наиболее актуальной и пока нерешённой проблемой является разработка таких способов повышения продукции микробиального протеина, которые не создают угроз для состояния здоровья, репродуктивной функции и долголетия коров. Повышение прироста микробной массы за единицу времени можно обеспечить за счёт дополнительного поступления энергетических субстратов при скармливании концентратов, а дефицит азота можно восполнить добавками мочевины, но при этом возникает ряд известных проблем. Предпринимаются попытки их решения путём эмпирического поиска, в том числе по применению сорбентов для обеспечения синхронного поступления азота и глюкозы при синтезе микробного белка (Василевский, 2023). Основная причина возникающих при этом проблем связана с трудностью поддержания оптимального уровня и соотношения источников энергии и азота на протяжении первых часов после приёма корма. На этом интервале времени происходят непрерывные изменения в системе метаболических потоков, концентраций субстратов и процессов массопереноса (всасывание в общую циркуляцию, эвакуация жидкой фракции содержимого рубца, потери при газообразовании и т.д.). Наиболее адекватный подход в этой ситуации состоит в проведении исследований по последовательным этапам: теоретические разработки – имитационное моделирование – планирование экспериментов – подготовка полного перечня материалов и методов – проведение серий опытов *in vitro* и на животных с рубцовыми канюлями – анализ результатов – повторение исследования после внесения в имитационную модель необходимых коррекций по всем этапам.

При оценке итогов данной работы необходимо иметь в виду, что в пилотном исследовании, выполняемом в качестве первого этапа многостадийного процесса создания имитационной модели, никогда не ставится целью получить результаты, имеющие непосредственное практическое значение. Исследователи, работающие в области биологии продуктивных животных, как правило, вынуждены решать проблемы фундаментальной сложности при концентрации научных сил и ресурсов, недостаточной для их решения. Тем не менее, при анализе полученных результатов можно отметить несколько положительных моментов, имеющих признаки новизны и актуальности:

1. Постановка задачи, концепция и методологические подходы к её решению.
2. Алгоритмы количественного анализа динамики изучаемых процессов
3. Выявление «белых пятен» в планировании экспериментов и рекомендации по их устранению.

Потребность в проведении таких исследований повышается в связи с разработкой новых технологических систем в кормлении, содержании и доении коров, внедрение которых в практику, помимо очевидных достоинств, может сопровождаться и неблагоприятными последствиями, если не проводить своевременный мониторинг с применением современных методов исследования. Так, в практике освоения систем добровольного доения, в которых посещение коровой доильной установки стимулируется выдачей порции корма, на фоне

сокращения междоильных интервалов отмечается увеличение риска болезней вымени, ухудшение репродуктивной функции и сокращение продолжительности продуктивной жизни (Овчаренко и др., 2023). Не исключено, что одной из возможных причин этих эффектов может быть накопленное отрицательное влияние недостаточно сбалансированного поступления источников энергии и азота для повышенного прироста массы микробиоты на протяжении первых часов после приёма корма.

Заключение

В исследованиях рубцового пищеварения у высокопродуктивных коров в настоящее время одной из наиболее актуальных и пока нерешённых проблем является разработка таких способов повышения продукции микробиального белка, которые не создают угроз для состояния здоровья, репродуктивной функции и долголетия коров. Основная трудность в решении этой задачи состоит в том, что на протяжении первых часов после кормления происходят непрерывные изменения в системе метаболических потоков, концентраций субстратов и процессов массопереноса (всасывание в общую циркуляцию, эвакуация жидкой фракции содержимого, потери при газообразовании и т.д.). Наиболее адекватный подход в этой ситуации состоит в проведении исследований по последовательным этапам: теоретические разработки – имитационное моделирование – планирование экспериментов – подготовка полного перечня материалов и методов – проведение серий опытов *in vitro* и на животных с рубцовыми канюлями – анализ результатов, повторение исследования после внесения необходимых коррекций по всем этапам.

Результаты проведенного пилотного (предварительного) исследования дают основание для заключения о целесообразности проведения дальнейших исследования по разработке алгоритмов анализа динамики ферментации зернового компонента комбикорма и прогноза синтеза микробиального белка в рубце в условиях *in vivo* с использованием кинетических параметров, оцененных по экспериментальным данным, полученным в экспериментах *in vitro*.

Список литературы

1. Богданов В.Е. Ростостимулирующие, адаптогенные, иммуностимулирующие свойства сухих пивных дрожжей. автореф. дисс... к.б.н. Санкт Петербург, 2008. 18 с.
2. Василевский Н.В. Оценка *in vitro* ферментативной активности рубцовой жидкости с добавкой препаратов сухих дрожжей. // Проблемы биологии продуктивных животных. 2023. № 4. С. 101-109.
3. Василевский Н.В., Березин А.С. Влияние разного уровня распадаемого протеина в рационе на показатели рубцового пищеварения и общего метаболического статуса у лактирующих коров. // Проблемы биологии продуктивных животных. 2024. № 2. С. 81-92.
4. Овчаренко Э.В., Санова З.С., Королёв В.Б., Лапкин А.Г., Соловьёва О.И. Изучение влияния технологических параметров на физиологические характеристики доения у высокопродуктивных коров при использовании доильных роботов. // Проблемы биологии продуктивных животных. 2023. № 4. С. 29-44.
5. Петров Д.В., Остренко К.С., Панина Е.В., Иванов А.А. Черепанов Г.Г. Продуктивные качества малой шиншиллы на фоне применения питьевой воды, обогащённой молекулярным водородом. // Проблемы биологии продуктивных животных. 2024. № 1. С. 59-72.
6. Черепанов Г.Г., Кузина И.Н. Количественный анализ процессов микробной ферментации и всасывания субстратов у коров (вычислительная модель). // Сельскохозяйственная биология, 1993, № 4. С. 118-131.
7. Черепанов Г.Г. Системное моделирование в исследованиях питания. // В сб.: Методы исследований питания с.-х. животных. Боровск: ВНИИФБиП, 1998. С. 372-402.
8. Черепанов Г.Г. Метаболические аспекты теории питания продуктивных животных (концепции и модели). Боровск: ВНИИФБиП, 2014 149 с.

9. Черепанов Г.Г., Березин А.С. Оценка *in vitro* кинетических параметров активности уреазы рубцовой микрофлоры и эффективности сорбентов аммиака. // Проблемы биологии продуктивных животных. 2023. № 4. С. 45-58.
10. Черепанов Г.Г., Василевский Н.В. Изучение динамики ферментации углеводов и газообразования в рубцовой жидкости *in vitro*: оценка кинетических параметров брожения с учётом размеров частиц комбикорма. // Проблемы биологии продуктивных животных. 2024. № 4. С. 29-42.
11. Baldwin R.L., Thornley J.H., Beever D.E. Metabolism of the lactating cow. II. Digestive elements of a mechanistic model. // J. Dairy Res., 1987, 54: 107-131.
12. Beever D.E. Simulation model of rumen fermentation. In: Computers in animal production. L., 1981.
13. Dijkstra J., Neal H.D.St.C., Beever D.E., France J. Simulation of nutrient digestion, absorption and outflow in the rumen: model description. // J. Nutr., 1992, 122: 2239.
14. Murphy M.R., Baldwin R.L., Ulyatt M.J. An update of a dynamic model of ruminant digestion. // J. Anim. Sci., 1986, 62, 5: 1412-1422.
15. Neal H.D.St.C., Dijkstra J., Gill M. Simulation of nutrient digestion, absorption and outflow in the rumen: model evaluation. // J. Nutr., 1992, 122: 2257.
16. Russell J.B., Strobel H.J. Microbial energetics. In: Quantitative aspects of ruminant digestion and metabolism. (J.M. Forbes, J. France, eds.). 1993, CAB Int., Wallingford, England: 165.

References (for publications in Russian)

1. Bogdanov V.E. *Rostostimuliruyushchie, adaptogennye, immunostimuliruyushchie svoystva sukhikh pivnykh drozhdzhei.* (Growth-stimulating, adaptogenic, immunostimulating properties of dry brewer's yeast). Extended Abstract of Diss. Cand. Sci. Saint Petersburg, 2008. 18 pp.
2. Cherepanov G.G. [Systems modeling in nutrition studies]. In: *Metody issledovaniy pitaniya s.-kh. zhivotnykh.* (Methods of research in agricultural animals nutrition). Borovsk: VNIIFBiP, 1998. P. 372-402.
3. Cherepanov G.G., Kuzina I.N. [Quantitative analysis of the processes of microbial fermentation and absorption of substrates in cows (computational model). *Sel'skokhozyaistvennaya biologiya* (Agricultural biology). 1993. 4: 118-131.
4. Cherepanov G.G. *Metabolicheskie aspekty teorii pitaniya produktivnykh zhivotnykh (kontseptsii i modeli).* (Metabolic aspects of the theory of productive animals nutrition: the concepts and models). Borovsk: VNIIFBiP, 2014. 149 pp.
5. Cherepanov G.G., Berezin A.S. [In vitro evaluation of kinetic parameters for urease of rumen microflora and efficiency of ammonia sorbents]. *Problemy biologii produktivnykh zhivotnykh.* (Productive animal biology). 2023, 4: 45-58UDC
6. Ovcharenko E.V., Sanova Z.S., Korolev V.B., Lapkin A.G., Solov'eva O.I. [Study of the influence of technological parameters on the physiological characteristics of milking in highly productive cows using milking robots]. *Problemy biologii produktivnykh zhivotnykh* (Productive animal biology). 2023. 4: 9-44.
7. Petrov D.V., Ostrenko K.S., Panina E.V., Ivanov A.A. Cherepanov G.G. [Productive qualities of small chinchilla against the background of the use of drinking water enriched with molecular hydrogen]. *Problemy biologii produktivnykh zhivotnykh.* (Productive animal biology). 2024 1: 59-72.
8. Vasilevskii N.V. [Evaluation of *in vitro* enzymatic activity of rumen fluid with the addition of dry yeast preparations]. *Problemy biologii produktivnykh zhivotnykh* (Productive animal biology). s2023, 4: 101-109

UDC 636.2.082

System-kinetic analysis of starch fermentation and microbial protein synthesis processor in the rumen: pilot study on a model

Cherepanov G.G.

Institute of Physiology, Biochemistry and Nutrition, branch of the Federal Research Center of Animal Husbandry, Ernst Vizh, Borovsk, Kaluga oblast, Russian Federation

ABSTRACT. An urgent task in the field of protein nutrition of highly productive dairy cattle is to ensure the synchronous entry of milled grain fermentation products and ammonia nitrogen into the rumen fluid when using urea feed additives. Ensuring such synchronicity is complicated by the non-stationarity of processes in the first hours after feeding, while significant deviations from the optimal ratio of their rates reduce the efficiency of the synthesis of highly valuable microbial protein. For a rational solution to this technological problem, it is promising to use the methodology of systems biology, which aims to develop algorithms for quantitative analysis of the dynamics of complex biological systems. The aim of this study is to develop algorithms for analyzing the fermentation dynamics of grain component particles of compound feed and microbial protein synthesis in the rumen under *in vivo* conditions using kinetic parameters previously estimated from experimental data obtained *in vitro* experiments. Individual stages of the study were performed earlier, and kinetic parameters of the main rate-limiting processes were determined: a resorption of solid particles of the endosperm of grains and glucose consumption in the direction of CO₂ formation, synthesis of microbial protein and VFA production. To estimate the rate of microbial protein synthesis, a ratio of 2.4 mg per 1 mg of synthesized protein has been used. The predicted amount of microbial protein per cow in the first hours after feeding was about 800 g (1.6 kg with two feedings). Concluded that it is promising to continue the research with a number of additional analyses (granulometric analysis of ground grain, determination of kinetic parameters *in vitro*, etc.).

Key words: rumen, carbohydrate metabolism, modeling, kinetic parameters, starch fermentation, CO₂ formation, microbial protein synthesis.

Problemy biologii produktivnykh zhivotnykh (Productive Animal Biology). 2025. 2: 54-70.

Поступило в редакцию: 22.05.2025

Получено после доработки: 04.06.2025

Сведения об авторах:

Черепанов Геннадий Георгиевич, д.б.н., с.н.с., гл. ред.; 89611243110@mail.ru