

**XXVI научно-практическая конференция школьников г. Пензы
«Я исследую мир»**



***Биоконверсия органических отходов при
помощи личинок двукрылого насекомого –
мухи черная львинка (*Hermetia illucens*)***

Подготовила: Ильина Александра,
учащаяся 9А класса
МБОУ СОШ №26 города Пензы
им.В.С. Гризодубовой

Руководитель: учитель биологии
Митина Н.Е.

Пенза – 2021

Содержание

Введение	2
Постановка проблемы	3
Гипотеза	3
Обзор литературы	3
Методы исследований	4
Результаты и их обсуждение	8
Выводы	13
Литература	14

Введение

Проблема защиты окружающей природной среды от загрязнения органическими отходами, которые представлены в основном, сельскохозяйственными, и в меньшей степени, пищевыми отходами, является актуальной во всех развитых странах мира [1,23]. Для России и Пензенской области в частности, в настоящее время остро встает вопрос размещения и утилизации отходов птицеводства, поскольку эта отрасль является наиболее масштабной и динамично развивающейся. Кроме того, в сельском хозяйстве существует значительная потребность в органических отходах агропромышленного комплекса, содержащих достаточное количество питательных элементов, в первую очередь азота, представляющих собой ценный сырьевой материал для биологической конверсии. В связи с этим, перспективным направлением может быть разработка технологий, позволяющих трансформировать органические отходы в сырье, которое может быть востребовано: удобрения, компост или источники кормовых белков и жиров. Если такие технологии реализуются при помощи живых организмов – бактерий, простейших, червей, насекомых – они являются приемами биоконверсии [2].

Биоконверсия (биотрансформация) – это раздел биотехнологии, наука, изучающая превращения одних органических соединений биологического сырья в другие под действием ферментных систем растительного, микробного и животного происхождения.

В настоящее время все шире распространяются технологии, когда в качестве источников получения кормового белка используются личинки насекомых. Личинки, утилизируя органические отходы, наращивают собственную биомассу, в составе которой велика доля белков и жиров. Такая биомасса служит источником питательных веществ для сельскохозяйственных животных.

По оценкам многих современных специалистов в области питания сельскохозяйственных животных, сложившийся в мире дефицит белка и энергии в рационах приводит к большому перерасходу кормов. Особенно недостаток белка заметен в птицеводстве. Потребность в белках у птицы велика, они нужны для построения мышечной ткани, формирования перьевого покрова, яиц. Большой интерес представляют технологии, предусматривающие использование в качестве белковой добавки личинок насекомых, утилизирующих органические отходы животноводства. Это способно обеспечить решение сразу двух задач: с одной стороны – экологически безопасная утилизация отходов животноводства, с другой – получение кормовой добавки, богатой белком.

Современный уровень развития птицеводческой отрасли и состояние ее сырьевой базы требуют принципиально нового подхода к проблеме использования внутренних ресурсов. Сущность этого подхода состоит в создании и внедрении малоотходных и безотходных технологий, позволяющих максимально и комплексно включать в хозяйственный оборот буквально все сырьевые ресурсы, которые постоянно образуются и накапливаются в птицеводческих хозяйствах при производстве основной продукции – яиц и мяса птицы. Применение такого подхода обусловлено необходимостью исключить ущерб, наносимый окружающей природной среде в результате накопления отходов, и создать условия для получения дополнительного дохода от реализации уже переработанных отходов. Личинки мухи черная львинка *Hermetia illucens* – один из самых перспективных видов организмов, способных конвертировать органические отходы в собственную биомассу. Однако при конверсии отходов птицеводства возникает проблема низкой эффективности этого процесса из-за большого количества целлюлозы и лигнина, содержащегося в таких отходах. Ферменты насекомых не справляются с такими сложно расщепляемыми полимерами, что замедляет и затрудняет процесс конверсии.

Постановка проблемы.

1. Необходим способ повышения эффективности биоконверсии основного отхода, образующегося в птицеводстве – пометно-подстилочной массы.
2. Есть возможность обеспечить биоконверсию не только помета, но и целлюлозы и лигнина птичьей подстилки при помощи личинок *Hermetia illucens*?

Гипотеза – предварительная деструкция пометно-подстилочного материала при помощи комплекса микроорганизмов сделает его более доступным для биоконверсии личинками мухи черная львинка (*Hermetia illucens*).

Цель работы - разработка технологии эффективной биоконверсии отхода птицеводства - пометно-подстилочной массы, богатой целлюлозой и лигнином, в богатую белком биомассу личинок *Hermetia illucens*.

Задачи:

1. Изучить технологию выращивания личиночной биомассы *Hermetia illucens*.
2. Оценить эффективность и предложить пути оптимизации конверсии материалов органических отходов при помощи личиночной биомассы *Hermetia illucens*.
3. Изучить биохимические особенности личиночной биомассы *Hermetia illucens*.

Обзор литературы

По данным В. Лысенко (ВНИТИП), птицефабрика на 400 тыс. несушек (примерно 9-10 птичников) получает в год около 30 тыс. тонн помета [7,8]. При разложении такого количества помета выделяется около 700 т биогаза, в том числе 450 т метана, 208 т углекислого газа, 35 т водорода, сероводорода и аммиака. Ущерб экосистеме от таких выбросов оценивается в 440 млн. рублей в год.

В Англии и США отходы птицеводства, в том числе и подстилку, используют в качестве экологически чистого топлива для обогрева помещений и получения электричества [1]. С целью защиты окружающей среды, особенно водоемов, от избыточного азота, фосфора и калия в некоторых штатах США запретили удобрять почвы птичьим пометом. В связи с этим предложен способ превращения его активированный уголь, применяемый в качестве адсорбента для очистки воды в фермерских хозяйствах, особенно в районах с неблагоприятной экологической ситуацией [1].

Использование калифорнийского или иной селекции червя (например, «старателя» в России) получило широкое распространение в США, Канаде, Англии, Японии, Италии [3,4]. При этом преследуются три цели: утилизация отходов, получение кормового белка и повышение плодородия почвы. Биомасса червей - отличный белковый корм для птицы и свиней, способный, однако, аккумулировать соли тяжелых металлов, действуя как биологический "насос".

Личинки мух, выращенные на органических отходах, обладают высокой скоростью роста, их масса увеличивается в течение недели в 300-500 раз. Учеными подсчитано, что биомасса от пары мух и их потомства при полной реализации генетического потенциала в конце года составит более 87 т, то есть будет равна весу шести слонов. В России разработана экологически чистая технология утилизации нативных органических отходов свиноводства и птицеводства с помощью личинок домашней мухи (*Musca domestica* L.) [11]. Биомасса личинок комнатной мухи - полноценный белковый корм для свиней, телят, птицы, пушных зверей, рыб. В нем содержится 48-52% протеина, 7-14% жира, 7-10% клетчатки, 7% БЭВ, 11-17% золы, а также биологически активные вещества (витамины, экдизон и т.д.) [11,14]. В России ощущается дефицит кормового белка для сельскохозяйственной птицы, что снижает ее продуктивность и увеличивает затраты корма на единицу продукции [4]. Дефицит протеина в рационах животных ведет к

тяжелым последствиям: снижается продуктивность, ухудшается качество продукции (например, уменьшается в молоке содержание белка и жира), замедляется рост молодняка, возрастает продолжительность выращивания и откорма, возникают заболевания, в том числе дистрофия.

В промышленном птицеводстве проблема белкового питания решается за счет рыбной, крильевой, мясо-костной муки, подсолнечникового и других шротов, кормовых дрожжей, но все эти продукты дорогостоящие и малодоступны населению. В связи с этим в малых и приусадебных хозяйствах предлагается использовать местные источники белка, каковыми являются пищевые отходы, черви, жуки, личинки, куколки, животный мир водоемов и другие [3,7].

Насекомые играют важную роль в круговороте питательных веществ в природе. Они составляют огромную часть живой биомассы. Тем не менее, как источник белка они практически не используются. Каждый день растущее население требует продуктов питания более высокого качества. Есть несколько реальных источников кормовых белков, но, к сожалению, не один из них не может решить проблему дефицита (рис. 1). Технология получения белкового концентрата с использованием насекомых позволит производить более 1000 тонн пищевых белков на гектар в год.

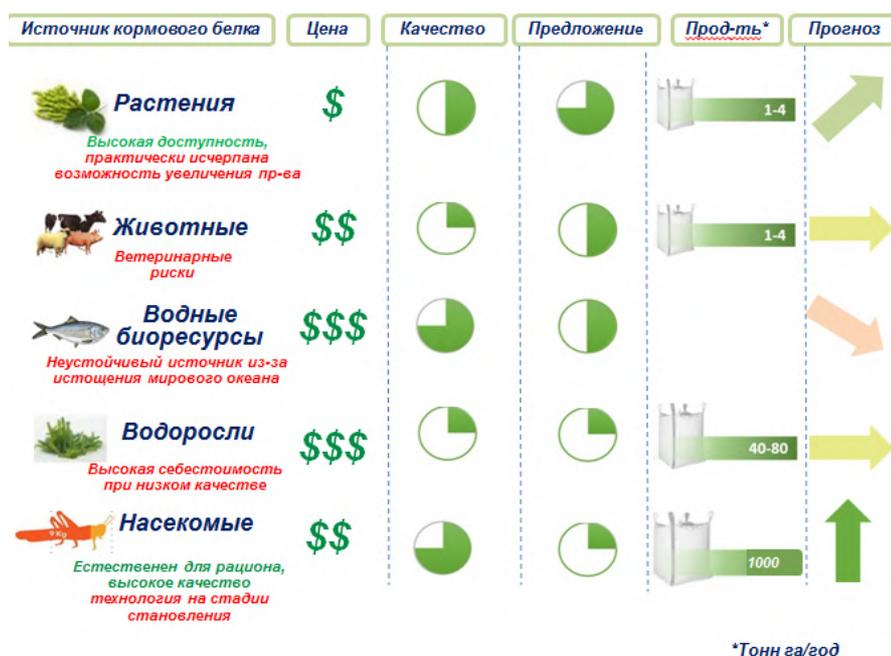


Рисунок 1 – Прогноз использования энтомологического белка в рационе с/х животных

Уже известны приемы, когда в качестве источников получения кормового белка используются личинки насекомых, утилизирующие органические отходы животноводства [8,9]. Отдельного внимания заслуживает двукрылое насекомое – муха черная львинка, имаго которых практически не питаются, а личинки способны ассимилировать органические отходы и активно наращивать биомассу [10,21,22]. Таким образом, исследования, посвященные изучению возможностей использования энтомологического белка в практике животноводства, являются перспективными.

Методы исследований

Исследования были проведены на базе МБОУ СОШ №26 города Пензы и лаборатории биотехнологии Пензенского аграрного университета. В экспериментах были использованы материалы отходов производства ГК «Дамате» и приборно-инструментальная база ООО «Биогенезис» (рис. 2).



Рисунок 2 – Предприятие ГК Дамате по выращиванию индейки в Ломовском районе Пензенской области

Предприятие по выращиванию индейки ГК Дамате расположено в Ломовском районе Пензенской области. На предприятии содержатся сотни тысяч голов птицы. Содержание птицы подстилочное, поэтому отработанной подстилочной массы образуются огромные массы. Здесь были отобраны образцы пометно-подстилочной массы после содержания индеек на выращивании. В экспериментах были использованы личинки мухи черная львинка (*Hermetia illucens*), используемые в практике ООО «Биогенезис» для утилизации отходов производства ГК «Дамате» (рис.3).



Рисунок 3 – Получение личинок *Hermetia illucens* в ООО «Биогенезис»

Общая схема процесса разведения *Hermetia illucens* приведена на рис. 4. Содержание имаго мух осуществляется в специальных инсектариях, где осуществляется и получение яйцекладок (рис. 5). Емкость с куколками мух помещают в подготовленный маточник. Для откладки мухами яиц в маточник помещают контейнер, с заранее размоченным комбикормом (или зерном).

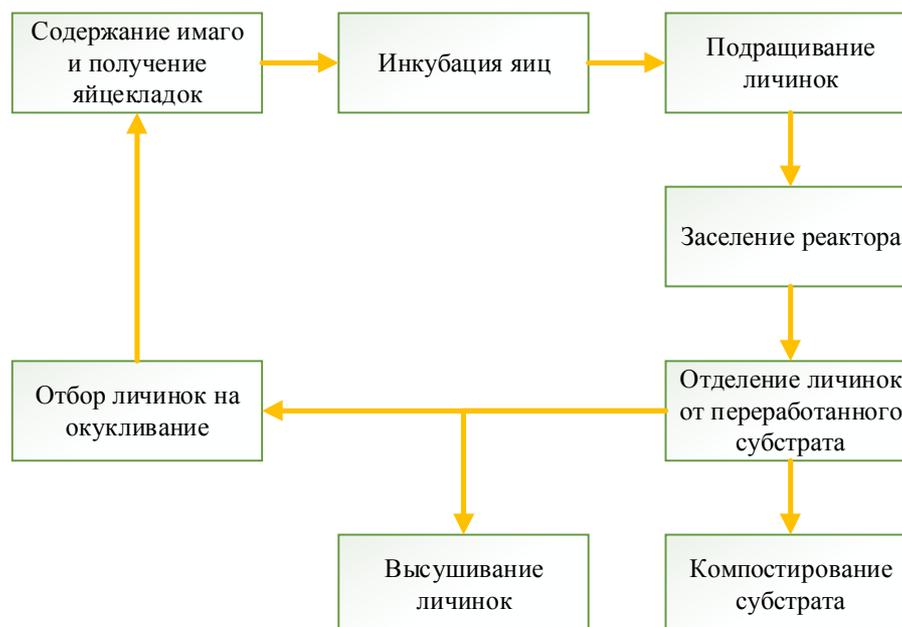


Рисунок 4 – Общая схема процесса разведения *Hermetia illucens*



Рисунок 5 – Содержание имаго *Hermetia illucens* в инсектариях

Спустя двое суток после выхода из куколок, мухи приступают к спариванию. Спустя еще двое суток мухи откладывают яйца. В одной кладке (ячейке) содержится до 500 яиц. С одного маточника ежедневно получают 10-20 г яиц (обеспечивающих впоследствии 76-160 тысяч личинок). Для инкубации яиц и подраста личинок яйцекладки переносят в контейнер с субстратом для подраста личинок. Их кормят размоченным зерном или комбикормом (или другим питательным субстратом) влажностью 60%. Личинок из инкубатора сепарируют от переработанного субстрата через сита с ячейками 2,5 мм, 1,5 мм, 1 мм. Затем осуществляют заселение контейнеров с отходами. Для этого отходы измельчают, гомогенизируют и доводят до влажности 60 – 70% и помещают в контейнеры для переработки, слоем до 10 см. Продолжительность стадии переработки субстрата личинками составляет 10 – 14 суток.

По истечению указанного времени производят отделение личинок от переработанного субстрата. Личинок сепарируют от переработанного субстрата с помощью сита с ячейкой 5 мм.

Для отбора наиболее крупных особей для пополнения маточника биомассу личинок пропускают через сито 6 мм. Оставшуюся биомассу личинок отправляют на переработку - замораживание и сушку. Сухую массу личинок размалывают до порошка и скармливают в качестве белковой добавки птицам. Полученный белковый порошок подвергался исследованиям (рис. 6).

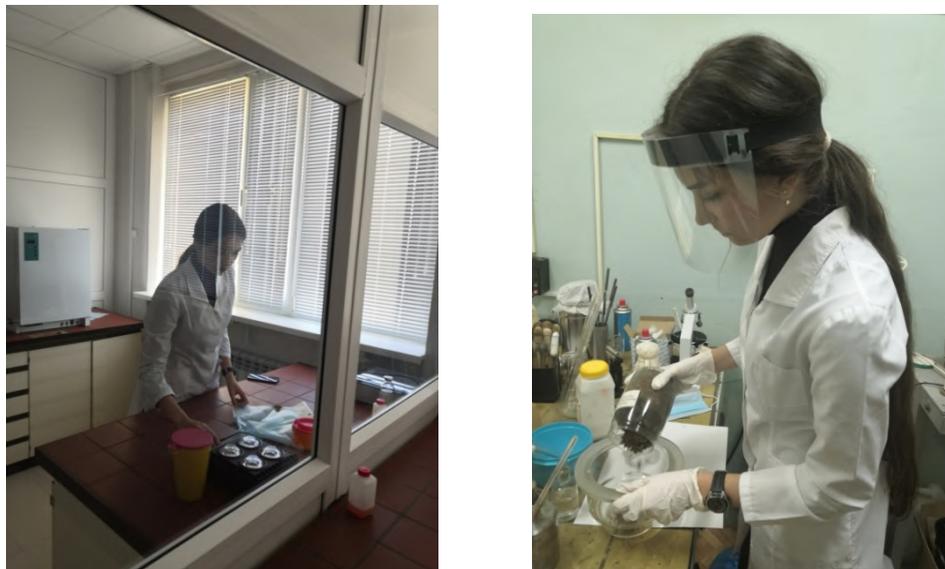


Рисунок 6 – Пробоподготовка материала для анализа

Внешний вид белкового порошка определяли визуально, влажность субстратов оценивали при помощи соответствующих методик [16,17,18]. Массовую долю сырого протеина определяли по ГОСТ 32044.1-2012 по Кьельдалю. Аминокислотный состав исследуемого продукта определяли с помощью автоматической аминокислотного анализатора марки «ААА 400» [19,20]. Коэффициент конверсии вещества рассчитывали как отношение сухой массы личинок к сухой массе исходного субстрата. Для оценки эффективности общей конверсии субстрата определяли начальную и конечную массу субстрата и полученные результаты использовали для расчета по формуле: **Масса начальная – Масса конечная/ Масса начальная × 100%**.

Выращивание микроорганизмов для ферментативной деструкции пометно-подстилочных материалов производилось по общепринятым методикам. Нарращивание необходимого количества биомассы производилось в условиях микробиологической качалки (рис. 7).



Рисунок 7 – Культивирование глубинной культуры микроорганизмов на микробиологической качалке

Все эксперименты проводились в трехкратной повторности. Статистическая обработка проводилась с помощью программы для обработки и анализа данных «Statistica 6.0». Оценка достоверности влияния на продуктивные параметры со стороны различных факторов осуществлялась с помощью дисперсионного анализа полученного массива данных (ANOVA). Для оценки значимости полученных данных использовался t-критерий Стьюдента при уровне значимости 0,95.

Результаты и их обсуждение

Для осуществления экспериментов был использован основной отход птицеводства - подстилочный помет индейки, находящейся на выращивании в условиях комплекса по выращиванию индейки ГК «Дамате», расположенного в Нижнеломовском районе Пензенской области. Это материал, обладающий неприятным запахом аммиака и характеризующийся присутствием большого количества примесей соломы и опилок (рис. 8).

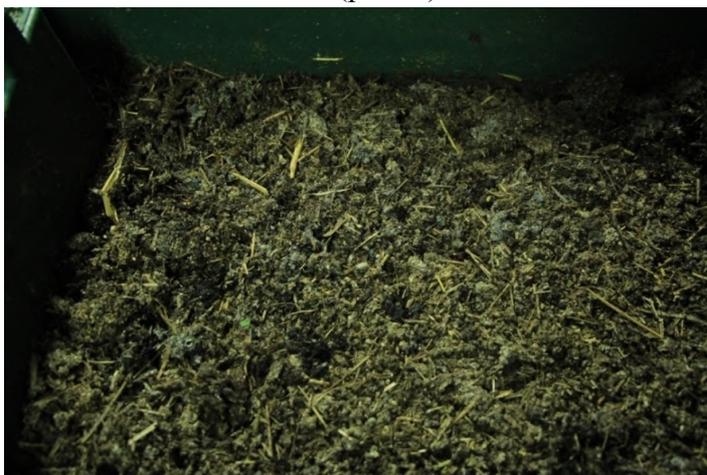


Рисунок 8 - Внешний вид отхода птицеводства – подстилочного материала.



Рисунок 9 – Заселение субстрата из пометно-подстилочного материала индеек личинками *Hermetia illucens*.

Субстрат измельчали, гомогенизировали и доводили до влажности 60 – 70% . Затем субстрат помещали в контейнеры (пластиковые ящики) для переработки, слоем до 10 см. Подготовленный субстрат заселяли личинками мухи черная львинка в возрасте 3-4 суток после вылупления (рис. 9).

Продолжительность стадии переработки субстрата личинкам составляет 10 – 14 суток. За указанный период личинки активно росли, измельчали и утилизировали субстрат, в результате чего в конце периода выращивания масса личинок визуально преобладала над свободным пространством субстрата. По истечению указанного времени производили отделение личинок от переработанного субстрата с помощью сита с ячейкой 5 мм (рис. 10).



Рисунок 10 – Личинки *Hermetia illucens* перед отделением от субстрата

Сепарированных личинок высушивали до постоянной массы, каждая партия взвешивалась отдельно на лабораторных весах. Эксперименты проводились в трех повторностях. В ходе исследований установлены значения конверсии вещества биомассой личинок. Сухая масса исходного субстрата являлась величиной относительно постоянной и составляла $6,33 \pm 0,05$ кг. Сухая биомасса личинок в эксперименте составила $0,48 \pm 0,02$ кг, $0,38 \pm 0,01$ кг и $0,42 \pm 0,01$ кг. Соответственно, конверсия в трех повторностях составила 7,58%; 6,00% и 6,64%.

Расчет общей конверсии субстрата определяли путем определения сухой массы субстрата до и после выращивания личинок. Значения общей конверсии складывается не только благодаря деятельности личинок, то также и ассимиляции субстрата микроорганизмами. Конечная сухая масса субстрата в трех повторностях составила 4,72 кг, 5,11 кг и 4,94 кг. Рассчитанные значения общей конверсии субстрата составили, соответственно, 25,4%; 19,3%; 22,0%. Между полученными данными существует корреляция (рис. 11).

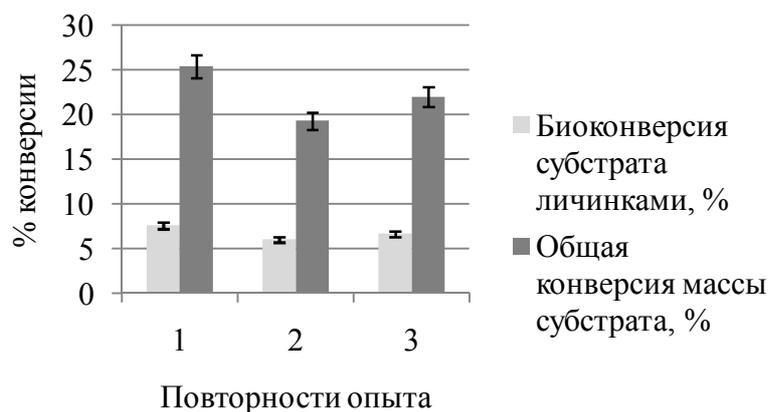


Рисунок 11 – Биоконверсия пометно-подстилочного субстрата при выращивании личинок *Hermetia illucens* в трех повторностях опыта

Согласно литературным данным, конверсия вещества субстрата личинками мухи черная львинка может происходить значительно более эффективно и достигать на некоторых субстратах значений, соответственно, 15% конверсии в биомассу личинок и более 40% общей убыли субстрата. Мы объясняем полученные в эксперименте незначительные показатели биоконвер-

сии и убыли субстрата высоким содержанием в нем целлюлозы и лигниновых компонентов, которые не ассимилируются личинками и способны угнетать их развитие. Однако отделить доступную органику от солоmistых и опилочных составляющих не представляется возможным. Необходим поиск возможностей оптимизации процесса конверсии, например, посредством ферментативной деструкции микроорганизмами. Культура такого микроорганизма должна быть термофильной, то есть сохранять жизнеспособность в условиях высоких температур, сопровождающих жизнедеятельность личинок, когда температура субстрата повышается до 42°C. В качестве такой культуры был выбран термофильный гриб *Thielavia terrestris*, штамм 308, из коллекции мицелиальных культур кафедры биологии, биологических технологий и ветеринарно-санитарной экспертизы Пензенского аграрного университета (рис. 12).



Рисунок 12 – Культура термофильного гриба *Thielavia terrestris*, штамм 308

Культуру гриба, выращенную в глубинных условиях, вносили в субстрат одновременно с его заселением личинками *Hermetia illucens* в количестве 10,0 г/кг субстрата. За контрольные показатели были приняты результаты, полученные при выращивании личинок без культуры гриба. Выращивание личинок осуществляли в течение двух недель. В опытном варианте отмечено значительное разрыхление и измельчение субстрата. Количество личинок в опытном варианте визуально было заметно больше, чем в контрольном (рис. 13).



Рисунок 13 – Биомасса личинок *Hermetia illucens* в конце периода культивирования: на переднем плане опытный вариант (с использованием *Thielavia terrestris*), на заднем плане - контроль

Учет массы личинок, выращенных на субстрате, подвергнутом параллельной ферментации термофильным мицелиальным грибом *Thielavia terrestris* показал, что результат значительно превысил контрольные показатели (рис. 14).

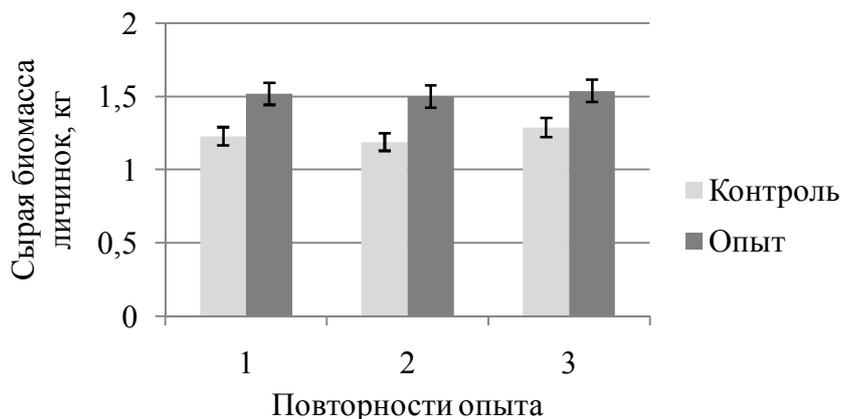


Рисунок 14 – Сырая биомасса личинок *Hermetia illucens*, полученная на разных субстратах: контроль – субстрат, основанный на пометно-подстилочном материале индейки, опыт – субстрат на основе того же материала, но параллельно ферментированного грибом *Thielavia terrestris*

Сахара лигноцеллюлозной составляющей компостного материала благодаря ферментам указанного микроорганизма были переведены в легкодоступные для личинок *Hermetia illucens* формы и активно ассимилировались им, на что указывает резко возросший коэффициент конверсии питательных веществ субстрата (рис. 15).

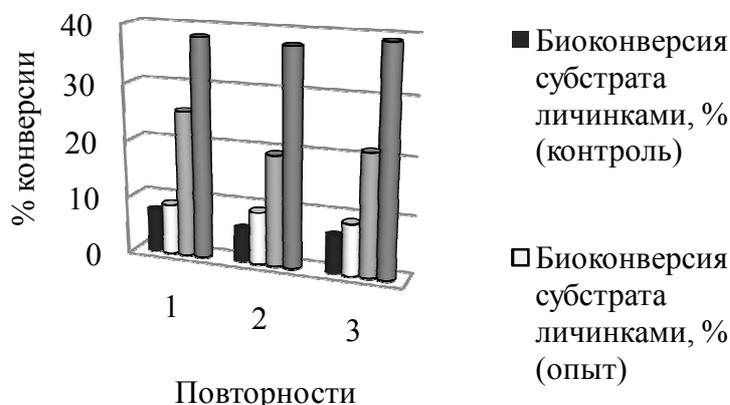


Рисунок 15 – Коэффициенты конверсии веществ личинками *Hermetia illucens* при выращивании на разных субстратах: контроль – основанный на пометно-подстилочном материале индейки, опыт – субстрат на основе того же материала, но параллельно ферментированного грибом *Thielavia terrestris*

Таким образом, ферментация пометно-подстилочного материала индеек термофильным мицелиальным грибом *Thielavia terrestris* позволяет улучшить структуру и повысить доступность питательных веществ субстрата, что обеспечивает увеличение продуктивности личинок черной львинки. Отмечено повышение эффективности биоконверсии пометно-подстилочного материала в условиях ферментации трудно утилизируемых компонентов субстрата термофильными мицелиальными грибами. Эффективность биоконверсии питательных веществ субстрата

в биомассу личинок возросла, в среднем, на 24,8%, а общая конверсия субстрата, на основании показателей его убыли в процессе выращивания личинок, в среднем на 33,9%.

Выросших личинок отделяли от субстрата при помощи сит и промывали от остатков переработанной пометно-подстилочной массы (рис. 16).



Рисунок 16 – Промытые от остатков субстрата личинки *Hermetia illucens*

Затем биомассу личинок отправляли на заморозку (для их обездвиживания) и на последующую сушку. Биомассу личинок подсушивали, размалывали до порошка, который досушивали на промышленной вакуумной сушилке в условиях ООО «Биогенезис». Сухой порошкообразный продукт, полученный из личинок мухи черная львинка, подвергали физико-химическому анализу (рис. 17, табл. 1). В межфакультетской биохимической лаборатории Пензенского аграрного университета был проведен анализ показателей содержания протеина, жира и влаги, содержания незаменимых аминокислот в исследуемом белково-липидном концентрате. Проведено сопоставление с данными по продуктам, традиционно используемым в качестве белковых добавок при кормлении сельскохозяйственных животных: соевый концентрат, рыбная мука и мясокостная мука (на основе сопроводительной документации к добавкам).



Рисунок 17 – Сухой порошкообразный продукт, полученный путем размола сухих личинок мухи черная львинка (*Hermetia illucens*)

Таблица 1 - Содержание протеина, жира и влаги в разных источниках протеина, перспективных для скармливания сельскохозяйственным животным (сравнительная характеристика)

Показатели	Личиночный белковый концентрат	Соевый концентрат	Рыбная мука	Мясокостная мука
Протеин, %	63,6	65,5	65,1	54,8
Жир, %	8,1	1,0	10,3	12,1
Влага, %	29,2	34,4	25,2	34,3
Массовая доля незаменимых аминокислот, %				
Треонин	1,52	2,7	2,5	2,0
Валин	2,33	3,4	2,5	2,7
Метионин	0,77	0,9	1,6	0,5
Изолейцин	1,87	3,2	2,1	1,0
Лейцин	2,71	5,2	4,0	3,8
Лизин	1,96	4,2	4,0	2,0

Полученные данные свидетельствуют о сопоставимости указанных источников белка, причем именно содержание протеина как целевого вещества в исследуемом продукте было на уровне аналогов. Исходя из того факта, что получение исследуемого продукта обеспечивается переработкой отходов, а не специальным производством, целесообразность его изготовления и использования не вызывает сомнений.

Известен мировой опыт кормления птицы подобным продуктом, полученным из личинок мухи черная львинка (*Hermetia illucens*). В США птенцы индейки, которых кормили пищей, содержащей высушенных личинок мух черная львинка, в качестве белковой добавки, набирали вес быстрее, а коэффициент усвояемости корма составил 96%. У птенцов, которых кормили кормом на основе соевой муки и жира, скорость роста была значительно ниже, а коэффициент усвояемости корма был на уровне 93% ($P < 0,05$).

В целом, полученные данные свидетельствуют о целесообразности внедрения технологии биоконверсии отходов птицеводства путем выращивания личинок *Hermetia illucens* как потенциального источника кормового белка.

Выводы

1. Использование личинок двукрылого насекомого – мухи черная львинка (*Hermetia illucens*) позволяет осуществить биоконверсию отхода птицеводства (пометно-подстилочной массы) в биомассу - источник белка для сельскохозяйственных животных.
2. Оптимизировать процесс биоконверсии позволяет параллельная микробная ферментация субстрата мицелиальным грибом *Thielavia terrestris*, который расщепляет целлюлозу и лигнин до простых сахаров для последующей ассимиляции их личинками.
3. Биомасса личинок богата питательными веществами, в том числе белком, содержащим незаменимые аминокислоты, поэтому пригодна для использования кормовой добавки для сельскохозяйственной птицы.

Литература

1. Афанасьев, В.Н. Состояние и основные пути улучшения экологической ситуации / В.Н. Афанасьев // Сельскохозяйственные вести. – 2005.– №6. – С. 12–13.
2. Биотехнология. Книга 6: Микробиологическое производство биологически активных веществ и препаратов. Быков В.А., Крылов И.А., Манаков М.Н. Книга в электронном виде - PDF DJVU и другие формы.
3. Гусев, Е.Г. Перспективные направления развития предпринимательства в сельской местности Приморского края в новых экономических условиях // Е.Г. Гусев, Г.И. Шуман. – Фундаментальные исследования. – 2016. – № 11-2. – С. 378-386
4. Егоров, И.П. Источники белка для птицеводства / И.П. Егоров, Б.Е. Розанов, Т.Д. Егорова, Н.А. Ушакова// «Комбикорма» №7, 2012 г.- С.78-92
5. Капустин, В.П. Переработка отходов животноводства и птицеводства/ В.П. Капустин, А.В. Уйменов // Вопросы современной науки и практики. -Университет им. В.И. Вернадского. №4(10). 2007. Том 2.- С. 23-26
6. Кулагина Е.М. Микробиологическая переработка птичьего помета с помощью биопрепарата "Эк-АРГО"/ Кулагина Е.М., Мухаметзянова А.Д., Барабанов В.П., Егоров С.Ю.// Вестник Казанского технологического университета.- 2006. - № 4. С. 185-188.
7. Лукин, С. Перспективные технологии использования пометных удобрений/ С. Лукин// Птицеводство. - 2008 - № 7. - С. 55.
8. Лысенко, В.И. Перспективная технология переработки помета./ В.И. Лысенко// Птицеводство. - 2011 - № 1. - С. 52
9. Лысенко В.И. Экономическая оценка экологического ущерба от загрязнения птичьим пометом/ В.И. Лысенко// Птицеводство. - 2010 - № 12. - С. 45-47.
10. Нарчук Э.П. Определитель семейств двукрылых насекомых (Insecta:Diptera) фауны России и сопредельных стран (с кратким обзором семейств мировой фауны) Санкт-Петербург. Издательство "Зоологический институт РАН". - 2003 г. 252 стр.
11. Сидоренко, О. Современные биотехнологии переработки отходов животноводства / О. Сидоренко, А. Лисенков, А. Шувариков, Е. Черданцев,- Птицеводческое хозяйство. Птицефабрика №3, 2011 г. – С. 27-33.
12. Серебрянский, Д.Н. Промышленная технология производства личинок мух *Hermetia Illucens* (Black Soldier Fly, черная львинка, черный солдат) и зоокомпоста на различных видах отходов сельского хозяйства и пищевой промышленности. Бизнес по продаже личинок черной львинки. Изготовление кормового белково-липидного концентрата из личинок мух *Hermetia Illucens* / Д.Н.Серебрянский. – Белгород, 2014 г – 280 с.
13. Тюрин В. Птичий помет - критерий санитарно-ветеринарной оценки. /В. Тюрин, Г. Мысова// Птицеводство. - 2010 - № 12. - С. 45-47.
14. Эрнст, Л.К. Переработка отходов животноводства и птицеводства/Л.К. Эрнст, Ф.Н. Злочевский, Г.В. Ерастов. – Животноводство России № 5, 2004. –с. 33-
15. Патент 2437864, Российская Федерация, МПК C05F3/00, A01C3/00, C 05P 1/08.Способ микробиологической переработки птичьего помета/ В.И. Дмитриев, И.В. Мартынова. Л.И. Кочкина. Опубл. 27.12.2011. Бюл. № 7.
16. ГОСТ 26423-85 Почвы. Методы определения удельной электрической проводимости, рН и плотного остатка водной вытяжки.- М.:Стандартинформ, 2011.- 39 с.
17. ГОСТ 13496.3-80Комбикорма, сырье. Методы определения влажности.
18. ГОСТ Р 57059-2016Корма, комбикорма, комбикормовое сырье. Экспресс-метод определения влаги.

19. ГОСТ 13496.4-84 Корма, комбикорма, комбикормовое сырье. Методы определения содержания азота и сырого протеина.
20. ГОСТ 13496.4-93 Корма, комбикорма, комбикормовое сырье. Методы определения содержания азота и сырого протеина.
21. Siddiqui I.A., Haas D., Heeb S. Extracellular protease of *Pseudomonas fluorescens* CHAO a biocontrol factor with activity against the root-knot nematode *Meloidogyne incognita* // *Appl. Environ. Microbiol.* 2005. Vol. 71, N° 9. P. 566-569.
22. Hale, William, Sr. "Black Soldier Fly Blog." *Black Soldier Fly Blog*. N.p., 7 Apr. 2010. Web. 06 Dec. 2015.
23. http://dachnica.com.ua/vegetable/ekologicheskoe_zemle_3674.html