

**МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ХАРЧОВИХ ТЕХНОЛОГІЙ**

Інститут (факультет) біотехнології та екологічного контролю
Кафедра біотехнології і мікробіології

«До захисту в ЕК»
Директор інституту(декан факультету)
Грегірчак Н.М.
(прізвище та ініціали)

« ___ » _____ 2021 р.

«До захисту допущено»
Завідувач кафедри
Пирог Т.П.
(прізвище та ініціали)

« ___ » _____ 2021 р.

**КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА
НА ЗДОБУТТЯ ОСВІТНЬОГО СТУПЕНЯ МАГІСТРА**

зі спеціальності 162 «Біотехнології та біоінженерія»
(код та назва спеціальності)
освітньо-професійної програми «Промислова біотехнологія»

на тему: Біотехнологія комбінованого силосувального препарату на основі
Lactobacillus buchneri

Виконав: здобувач 2 курсу, групи 01

Хоньків Мирослав Олександрович
(прізвище, ім'я, по батькові повністю) _____ (підпис)

Керівник Тетеріна Світлана Миколаївна
(прізвище, ім'я та по батькові повністю) _____ (підпис)

Консультанти Даниленко С.Г.
(прізвище та ініціали) _____ (підпис)

(прізвище та ініціали) _____ (підпис)

(прізвище та ініціали) _____ (підпис)

Рецензент Науменко О.В.
(прізвище та ініціали) _____ (підпис)

Засвідчую, що в цій кваліфікаційній
роботі немає запозичень із праць
інших авторів без відповідних
посилань.

Здобувач _____
(підпис)

Київ – 2021 р.

НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ХАРЧОВИХ ТЕХНОЛОГІЙ

Інститут (факультет) біотехнології та екологічного контролю
Кафедра біотехнології і мікробіології
Освітній ступінь магістр
Спеціальність 162 «Біотехнології та біоінженерія»
(код і назва)
Освітньо-професійна програма «Промислова біотехнологія»
(назва)

ЗАТВЕРДЖУЮ

Завідувач кафедри біотехнології і мікробіології

Пирог Т.П.

“ 28 ” жовтня 2020 року

З А В Д А Н Н Я

НА КВАЛІФІКАЦІЙНУ РОБОТУ ЗДОБУВАЧА

Хоньківа Мирослава Олександровича

(прізвище, ім'я, по батькові)

1. Тема роботи Біотехнологія комбінованого силосувального препарату на основі *Lactobacillus buchneri*

керівник роботи Тетеріна Світлана Миколаївна, к.т.н., доцент,
(прізвище, ім'я, по батькові, науковий ступінь, вчене звання)

затверджені наказом закладу вищої освіти від “26” жовтня 2020 року №868-кв

2. Строк подання здобувачем роботи _____
3. Вихідні дані до роботи Біологічні агенти: *Lactobacillus buchneri* 3806, *L. plantarum* 3216, *L. acidophilus* 7074, *L. casei* 3300, *L. brevis* 3432. Склад основи середовища для оптимізації: гідролізоване молоко, калій фосфорнокислий однозаміщений – 2 г/л; марганець сірчаноокислий 5-водний – 0,05 г/л; магній сірчаноокислий 7-водний – 0,2 г/л, твін-80 – 1,0 мл/л.

4. Зміст пояснювальної записки (перелік питань, які потрібно розробити) Вступ; Розділ 1. Ефективність використання комбінованих препаратів у силосуванні; Розділ 2. Особливості оптимізації складу поживного середовища; Розділ 3. Технологія виробництва комбінованих бактеріальних препаратів для силосування. Розділ 4. Матеріали та методи дослідження; Розділ 5. Результати та обговорення; Висновки.

5. Перелік графічного матеріалу

6. Консультанти розділів роботи

Розділ	Прізвище, ініціали та посада консультанта	Підпис, дата	
		завдання видав	завдання прийняв
Вступ	Даниленко С. Г., д.т.н, с.н.с., завідувач відділу біотехнології Інституту продовольчих ресурсів НААНУ	14.12.2020	18.12.2020
Розділ 4. Матеріали та методи дослідження	Даниленко С. Г., д.т.н, с.н.с., завідувач відділу біотехнології Інституту продовольчих ресурсів НААНУ.	23.11.2020	18.12.2020
Розділ 5. Результати та обговорення	Даниленко С. Г., д.т.н, с.н.с., завідувач відділу біотехнології Інституту продовольчих ресурсів НААНУ.	23.11.2020	18.12.2020

7. Дата видачі завдання 28 жовтня 2020

КАЛЕНДАРНИЙ ПЛАН

№ з/п	Назва етапів виконання кваліфікаційної роботи	Строк виконання етапів роботи	Примітка
1	Пошук літератури для написання розділів 1-3	27.10.2020-2.11.2020	
2	Написання розділу 1. Ефективність використання комбінованих препаратів у силосуванні	3.11.2020-9.11.2020	
3	Написання Розділ 2. Особливості оптимізації складу поживного середовища	9.11.2020-12.11.2020	
4	Написання Розділ 3. Технологія виробництва комбінованих бактеріальних препаратів для силосування.	17.10.2020-12.10.2020	
5	Оформлення та виправлення розділів 1-3	17.10.2020-23.11.2020	
6	Написання Розділ 4. Матеріали та методи дослідження	23.11.2020-18.12.2020	
7	Написання Розділ 5. Результати та обговорення	23.11.2020-18.12.2020	
8	Написання висновків до роботи	14.12.2020-18.12.2020	
9	Написання вступу	14.12.2020-18.12.2020	
10	Оформлення літератури та посилань	14.12.2020-18.12.2020	
11	Оформлення кваліфікаційної роботи	14.11.2020-10.01.2020	

Здобувач

_____ (підпис)

Керівник роботи

_____ (підпис)

Хоньків М.О.

_____ (прізвище та ініціали)

Тетеріна С.М.

_____ (прізвище та ініціали)

РЕФЕРАТ

Дана кваліфікаційна робота присвячена результатам дослідження щодо розробки біотехнології бактеріальної закваски для силосування кукурудзи, яка включає наступні етапи: встановлення ефективної дво- або трьохштамової композиції на основі гетероферментативного штаму *Lactobacillus buchneri* 3806 з додаванням інших представників молочнокислих бактерій, яким властиві альтернативні типи метаболізму; оптимізація умов культивування новоствореної бактеріальної композиції; підбір кріопротекторів для ліофілізації цієї композиції.

В ході проведених експериментів було встановлено найбільш ефективну бактеріальну композицію, наступного складу: *L. buchneri* 3806, *Enterococcus faecium* C-8-12, *L. plantarum* 3216.

Ефективність отриманої композиції було перевірено шляхом лабораторного силосування кукурудзи. Випробування препарату на основі обраної бактеріальної композиції показало покращення якості готового силосу порівняно з необробленим контрольним та обробленим лише монокультурою *L. buchneri* 3806, а саме: було відмічено зменшення втрат сухих речовин на 2,21% та 2,04% відповідно, зниження рН силосу до 4,22 за рахунок збільшення вмісту молочної кислоти, та підвищення аеробної стійкості силосу – 341 год. проти 57 год. контрольного зразка, та 313 год. у разі використання монокультури.

За використання центральньо-композиційного плану, створення поверхні відгуку та методів статистичного аналізу для одержаної бактеріальної композиції було оптимізовано поживне середовище наступного складу, г/л: основа (гідролізоване молоко з додаванням таких солей: калій фосфорнокислий однозаміщений – 2 г/л; марганець сірчаноокислий 5-водний – 0,05 г/л; магній сірчаноокислий 7-водний – 0,2 г/л, твін-80 – 1,0); глюкоза – 19,7; дріжджовий екстракт – 7,8; кукурудзяний екстракт – 23,6; пептон – 9,1; цитрат натрію – 6,6; ацетат натрію – 3,4. Культивування бактеріальної композиції на оптимізованому середовищі дало змогу отримати

максимальний вихід біомаси – $13,2 \pm 0,1$ г/л, що майже вдвічі більше ніж аналогічний показний одержаний на середовищі МРС – $7,3 \pm 0,1$ г/л. Також було встановлено оптимальні технологічні параметри культивування бактеріальної композиції, а саме найкращий ріст спостерігався за температури $36,4 \pm 0,4^\circ\text{C}$ за постійної підтримки значення рН в культуральному середовищі на рівні $6,5 \pm 0,1$ од. Крім того, було підібрано оптимальний склад захисного середовища, що містить цитрат натрію, сахарозу і агар, та забезпечує ступінь виживання молочнокислих бактерій 98,4% після ліофілізації.

Кваліфікаційна робота складається зі вступу, п'яти розділів, висновків, списку використаної літератури з 128 найменувань, та 3 додатків. Загальний обсяг роботи – 86 сторінок, містить 34 таблиці та 8 рисунків.

Ключові слова: *силос, комбінований бактеріальний препарат, Lactobacillus buchneri, оптимізація, центральна-композиційний план, поживне середовище, технологічні параметри, захисне середовище, молочнокислі бактерії.*

ЗМІСТ

РЕФЕРАТ	3
ВСТУП	7
РОЗДІЛ 1. ЕФЕКТИВНІСТЬ ВИКОРИСТАННЯ КОМБІНОВАНИХ ПРЕПАРАТІВ У СИЛОСУВАННІ	9
1.1. Передумови вибору складу біопрепарату	9
1.1.1. Вибір сировини	9
1.1.2. Вплив типу рослинної сировини на якість силосування	10
1.1.3. Підходи до вибору складу комбінованих біопрепаратів	14
1.2. Механізми консервувальної дії бактеріальних культур в процесі силосування.	15
1.3. Вплив комбінованих біопрепаратів на якість готового силосу.	20
1.4. Вибір агрегатної форми для зберігання силосувальних властивостей комбінованого препарату	28
РОЗДІЛ 2. ОСОБЛИВОСТІ ОПТИМІЗАЦІЇ СКЛАДУ ПОЖИВНОГО СЕРЕДОВИЩА	30
2.1. Джерела поживних речовин в забезпеченні ростових потреб біологічних агентів для силосування.....	30
2.2. Підходи в дослідженні оптимальних концентрацій компонентів поживних середовищ	31
РОЗДІЛ 3. ТЕХНОЛОГІЯ ВИРОБНИЦТВА КОМБІНОВАНИХ БАКТЕРІАЛЬНИХ ПРЕПАРАТІВ ДЛЯ СИЛОСУВАННЯ	37
3.1. Підтримка активності колекційних штамів.....	37
3.2. Умови одержання бактеріальної біомаси	37
3.3. Зберігання біопрепарату.....	39
ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА	44
РОЗДІЛ 4. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ	44
4.1. План проведення дослідження	44
4.2. Приготування поживних середовищ.....	44
4.3. Бактеріальні культури	46
4.4. Одержання чистих культур ентерококів з фекалій кролів	48
4.5. Методи аналізу, скринінгу та ідентифікації бактеріальних культур.....	50
4.6. Реактивація ліофілізованих культур молочнокислих бактерій.....	51

4.7. Силосування кукурудзи в лабораторних умовах.....	52
4.8. Аналіз готового силосу.....	52
4.8.1. Активна кислотність.....	52
4.8.2. Визначення вмісту сухих речовин.....	53
4.8.3. Визначення вмісту розчинних вуглеводів.....	54
4.8.4. Визначення масової частки органічних кислот.....	58
4.8.5. Метод визначення сирого протеїну.....	59
4.8.6. Метод визначення аеробної стабільності силосу	64
4.9. Вирощування культур та культивування їх композицій	64
4.10. Оптимізація поживного середовища	64
4.11. Оптимізація технологічних параметрів культивування бактеріальної композиції	65
4.12. Математичне планування та статистична обробка результатів	66
4.13. Вибір захисного середовища для ліофілізації.....	66
РОЗДІЛ 5. РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ	67
5.1. Силосування кукурудзи з обробкою <i>L. buchneri</i> 3806	67
5.2. Виділення, відбір та ідентифікація ентерококів	68
5.3. Вибір бактеріального складу для комбінованого препарату.....	73
5.4. Вплив новоствореної бактеріальної композиції на якість силосу з кукурудзи	74
5.5. Оптимізація поживного середовища.....	76
5.6. Оптимізація значень рН та температури культивування.....	81
5.7. Вибір захисного середовища для ліофілізації.....	84
ВИСНОВКИ	86
СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ	
ДОДАТКИ	

ВСТУП

Практика використання біопрепаратів для збереження рослинних кормів має численну кількість прикладів, що свідчать про велику розбіжність у принципах вибору їх ефективного складу в залежності від умов їх застосування. Різноманіття сировини та її хімічного складу є найголовнішою причиною великої кількості варіацій біопрепаратів, що використовують в своєму складі культури з різним типом метаболізму задля забезпечення необхідного ефекту. Накопичення досвіду та знань в області силосних біопрепаратів дозволило використовувати особливості силосної мікробіоти не лише для консервування силосу, а і для покращення його хімічного складу та органолептичних властивостей. Проте, серед наявних досліджень більшість зосереджено на використанні монокультурних препаратів для досягнення конкретного ефекту [1, 2]. Частина авторів описує переваги використання гомоферментативних молочнокислих бактерій [3, 4], тоді як інша досліджує ефекти менш популярних для силосних препаратів представників гетероферментативного типу бродіння. Нині існує недостатня кількість експериментальних даних, що стосувалася б практики поєднання декількох різних типів бродіння у комбіновані заквашувальні препарати в залежності від обраної сировини. Цей підхід дозволяє використовувати переваги декількох метаболізмів, внаслідок чого є можливим значно зменшити їх окремі негативні прояви [5]. Більшість наявних досліджень стосуються лише кінцевих характеристик силосів, які одержані з використанням комерційних бактеріальних препаратів [6, 7].

Зокрема, для кукурудзи до складу таких препаратів входять різні варіації мікробіоти, серед яких найбільш поширені представники видів *Lactobacillus buchneri*, *L. plantarum*, *L. brevis*, *L. casei*, *Enterococcus faecium*, *Pediococcus pentosaceus*, та інші [8, 9]. Проте, дослідження показують, що

					НУХТ БТЕК 02.01.07 КР ПЗ			
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата				
Розробив		Хоньків М.О.			ВСТУП	Літ.	Арк.	Акрушів
Перевірив		Тетеріна С.М.					7	2
Консульт.		Даниленко С.Г.				Кафедра БТМ		
Н. контр.								
Затверд.		Пирог Т.П.						

комбіновані препарати навіть з вдало підібраним складом, не завжди здатні проявити свої властивості в природніх умовах. Внесені культури мають бути адаптовані до сировини, що дозволить їм проявити домінування серед мікробіоти силосу. Це може бути досягнуте використанням штамів виділених з силосу природнього бродіння високої якості. Така нативна силосна мікробіота характеризується високою швидкістю росту, високою продуктивністю накопичення органічних кислот та антимікробних сполук [10, 11]. Окрім того, на природню адаптацію впливає і розвиток ферментних систем біологічних агентів, які формуються на етапах одержання бактеріальної біомаси залежно від джерел поживних речовин [12]. Так, є повідомлення, що для збільшення приросту біомаси молочнокислих бактерій, замість/в поєднанні з дріжджовим та м'ясним екстрактом можуть бути використані недорогі альтернативи, такі як, наприклад - кукурудзяний екстракт. Це може бути застосовано для вирощування бактеріальних культур, які в подальшому будуть використані для силосування кукурудзи [13, 14].

Саме тому, **актуальним** є вибір вдалого складу комбінованого біопрепарату для силосування, а також підбір оптимального складу поживного середовища, що має бути спорідненим з хімічним складом цільової сировини і забезпечує одержання високого рівню біомаси біологічних агентів, та забезпечення оптимальних технологічних параметрів для їх культивування.

В наших попередніх дослідженнях було виділено та відібрано з кукурудзяного силосу штами *L.buchneri* 3806 та *L.plantarum* 3796. З них для силосування було досліджено гетероферментативний штам *L.buchneri* 3806, що володів високою стійкістю до навколишніх умов та гарними антагоністичними властивостями. Цей штам було оцінено як перспективний для створення на його основі нового біопрепарату для силосування. Відповідно **метою дослідження** було створити перспективну бактеріальну композицію на основі штаму *L.buchneri* 3806 та оптимізувати умови її культивування та ліофілізації для одержання готової форми препарату.

РОЗДІЛ 1. ЕФЕКТИВНІСТЬ ВИКОРИСТАННЯ КОМБІНОВАНИХ ПРЕПАРАТІВ У СИЛОСУВАННІ

1.1. Передумови вибору складу біопрепарату

Практика використання біопрепаратів для збереження рослинних кормів має численну кількість прикладів, що свідчать про велику розбіжність у принципах вибору їх ефективного складу в залежності від умов їх застосування [15]. Проте, важливим є не тільки обрані компоненти, а і те наскільки вони адаптовані до умов одержання силосування. Саме від того, наскільки мікроорганізми здатні проявляти свої функції в різних умовах залежить ефективність технології. До таких умов можна віднести властивості рослинної сировини – хімічний склад, вологість, та конкуруюча епіфітна мікробіота. Саме тому, різноманіття сировини та її хімічного складу є найголовнішою причиною великої кількості варіацій силосувальних препаратів, що використовують в своєму складі переваги різних типів метаболізму присутніх культур для забезпечення необхідного ефекту [16].

1.1.1. Вибір сировини

Відомо, що основною групою мікроорганізмів, що використовуються молочнокислі бактерії. Серед складових сировини, основними ростовими субстратами для них є природні цукри що містяться в клітинному соку рослин – переважно глюкоза та фруктоза. Від доступності та вмісту цих вуглеводів, головним чином, залежить потенціал їх зброджування до органічних кислот. Зокрема, внаслідок вироблення молочної кислоти, в силосі збільшується концентрація іонів водню до рівня, при якому небажана мікробіота (в основному гнилісні та маслянокислі бактерії) гальмується в розвитку [15]. Критичний рН при якому пригнічуються ріст основних представників, що псують силос, а саме бактерій роду *Clostridium* та *Enterococcus* залежить від вмісту вологи та температури. Чим нижча

					НУХТ БТЕК 02.01.07 КР ПЗ			
<i>Змн.</i>	<i>Арк.</i>	<i>№ докум.</i>	<i>Підпис</i>	<i>Дата</i>	РОЗДІЛ 1.ЕФЕКТИВНІСТЬ ВИКОРИСТАННЯ КОМБІНОВАНИХ ПРЕПАРАТІВ У СИЛОСУВАННІ	<i>Літ.</i>	<i>Арк.</i>	<i>Акрушів</i>
<i>Розробив</i>	<i>Хоньків М.О.</i>						9	21
<i>Перевірив</i>	<i>Тетеріна С.М.</i>					Кафедра БТМ		
<i>Консульт.</i>								
<i>Н. контр</i>								
<i>Затверд.</i>	<i>Пирог Т.П.</i>							

вологість, тим більш критичним є вплив рН. Для анаеробної стабільності силосу при вмісті сухих речовин 150, 250, 350 та 450 г/кг рослинної сировини необхідний рівень рН для забезпечення стабільності процесу становить 4,10, 4,35, 4,60 і 4,85 відповідно [17]. Проте, чим більший вміст сухих речовин в силосній сировині тим більша ймовірність зараження силосу дріжджами і грибами, для яких молочна кислота і низький рівень рН не мають такого ж пригнічуючого впливу як на бактеріальну мікробіоту силосу [15]. Тож вибір профілю бродильної мікрофлори в біопрепаратах, перш за все обирається зважаючи на характеристику рослин, що піддаються силосуванню.

1.1.2. Вплив типу рослинної сировини на якість силосування

Кукурудза

Вибір рослинної сировини для різних регіонів, перш за все, залежить від доступності різних типів рослин. Зокрема силос з кукурудзи є основним кормом у Європі та Північній Америці [18]. Склад мікробної спільноти в такому силосі детально описали Tennant з командою [19]. Згідно проведеного ними метагеномного дослідження, основна мікробіота кукурудзяного силосу представлена видами роду *Lactobacillus*. На їхню долю припадає 24% складу мікробіоти силосу. Через те, що представники цього роду є домінуючими в силосі і виступають як основна мікробіота, діяльність якої направлена на підвищення якості силосу, їх використовують в препаратах для силосування. Окрім лактобацил широко використовуються і представники роду *Propionibacterium*, які кількісно займають 3% від загальної кількості мікробіоти силосу [19].

Поживна цінність кукурудзяного силосу залежить від гібриду, щільності врожаю, умов вирощування, ступеня зрілості та вологості врожаю при збиранні [20]. Серед рослинних культур, що використовуються для силосування, кукурудза різко відрізняється, за найвищим серед них, вмістом розчинних вуглеводів (280–510 г/кг сухих речовин [21]). Фізичні характеристики, такі як середній розмір частинок і щільність, безпосередньо пов'язані з типом бродіння та його поширенням в силосі, а аеробна стійкість є

головним фактором, який визначатиме якість корму. Виробництво силосу, з низькою щільністю, через великий середній розмір частинок, сприяє споживанню розчинних вуглеводів за низького виробництва органічних кислот та високого кінцевого рН. А також, це призводить до підвищення пористості та інфільтрації повітря через силос, що призводить до розвитку аеробних мікроорганізмів, що спричиняють зігрівання [22].

В огляді Kung [16], показано, що значення рН для кукурудзяного силосу варіюється в межах від 3.9 од. до 5.4 од., при чому, простежується закономірність збільшення цих значень за відповідного збільшення вмісту сухих речовин в зразках кукурудзяного силосу від 25 до 80% (рис.1.1). Для одержання якісного силосу рівень рН має бути меншим за значення - 4,2 од., саме тому, з кукурудзи, яка містить більше ніж 50 % сухих речовин, не може утворитися якісний силос.

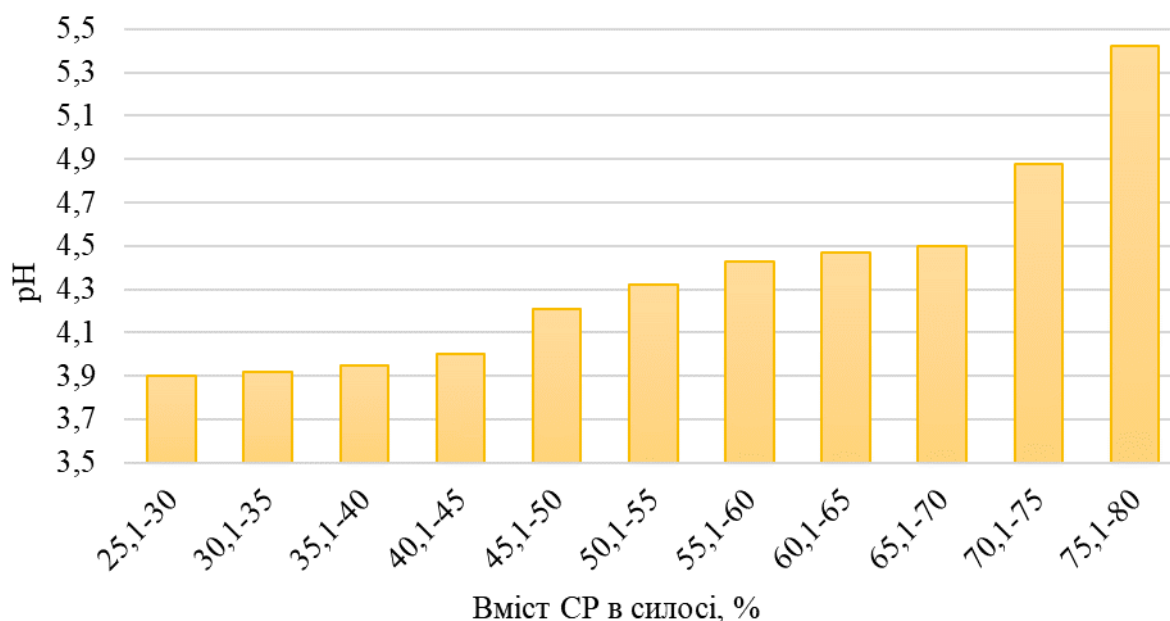


Рис. 1.1 Залежність значень рН готового кукурудзяного силосу залежно від вмісту сухих речовин (СР) [16].

Що ж стосується інших параметрів, то вміст органічних кислот також є меншим при більших значеннях концентрації сухих речовин. Ці данні наведені на рис. 1.2.

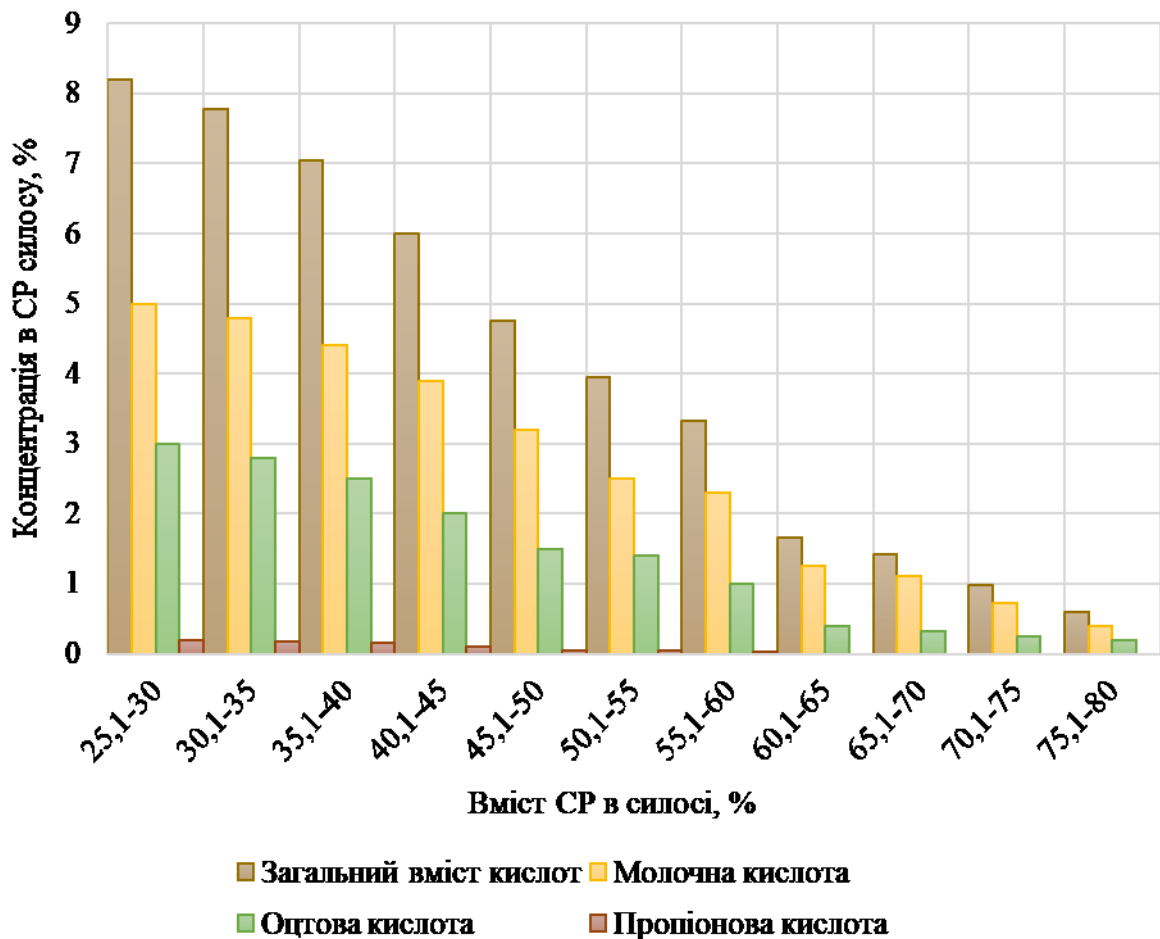


Рис. 1.2. Залежність концентрації органічних кислот в готовому кукурудзяному силосі від вмісту сухих речовин (СР) [16].

Проте, повідомляється [16], що попри гарне силосування сировини, зі зниженням вологості, за доступу повітря збільшується ймовірність небажаного розвитку дріжджів, оскільки одержаний силос має більш пористу структуру та менше співвідношення вмісту органічних кислот з протигрибковою активністю (таких як оцтова кислота) до загального вмісту сухих речовин (рис 1.2.).

Люцерна

Люцерна - це кормова культура, багата білками. Однак з неї складно одержати силос гарної якості через низький вміст вуглеводів, що зброджуються (4-20 г/кг сухих речовин [23]), високу буферну здатність та трубчасте порожнисте стебло, що гальмує повне видалення повітря під час силування [22].

Сорго

Для посушливих та напівсухих кліматичних регіонів є важливим кормове сорго, що добре адаптується до навколишнього середовища з обмеженими опадами, високими температурами та низькою родючістю ґрунту. Кормове сорго використовує воду набагато ефективніше, ніж кукурудза, має більш високий вихід біомаси під час впливу посухи і все одно дає прийнятний урожай силосу [24]. Вміст розчинних вуглеводів для солодкого кормового сорго складає 180-250 г/кг сухих [23], а для зернового – 56-132 г/кг сухих речовин [23].

Райграс

Наступною по популярності сировиною є райграс. Використання райграсу для силосування здійснюється в переважній більшості Європейських країн, та в північній частині Африки. Вміст розчинних вуглеводів в залежності від умов вирощування дуже неоднорідний і варіює в межах 5-220 г/кг [23].

Трава

Трави теплої пори року, наприклад слонова трава, мають низькі концентрації розчинних вуглеводів та високу буферну здатність. Як результат – процес бродіння відбувається малоефективно, що знижує ймовірність одержання високоякісного силосу [25].

Узагальнені данні по важливим показникам хімічного складу зеленої маси частини різної рослинної сировини наведено в табл. 1.1

Таблиця 1.1

Усереднений хімічний склад різної рослинної сировини

Рослинна сировина	*СР, % рослинної маси	Склад сухих речовин, %			Джерело
		*СП	*СК	*ВВ	
Кукурудза	30	8	24	18	[26, 27]
Люцерна	26	15	27	6	[26, 27]
Сорго цукрове	34	7	21	35	[28, 29]
Райграс	26	9	25	12,9	[30, 31]
Овес	22	10	27	18,3	[30, 31]
Конюшина	21	15	23	8	[26, 27]

***Примітка:** СР-сухі речовини, СП-сирий протеїн, СК-сира клітковина, ВВ-водорозчинні вуглеводи.

Особливості використання тої чи іншої сировини, все більше обумовлює надання переваг в створення комбінованих біопрепаратів розроблених і пристосованих під певний вид сировини.

Зважаючи на регіони вирощування, вміст водорозчинних вуглеводів, буферну здатність та кормову цінність можна зробити висновок, що найбільш універсальною сировиною для силосування є кукурудза. Це в свою чергу спрямовує ринок силосних біопрепаратів на їх застосування для одержання високоякісного кукурудзяного силосу. Головною вимогою для його одержання є використання сировини з вмістом сухих речовин в діапазоні від 20 до 45 %.

1.1.3. Підходи до вибору складу комбінованих біопрепаратів

В розробці комбінованих препаратів для силосування можна виділити два підходи. Перший полягає у використанні бактерій разом з амілолітичними ферментами. Другий підхід у використанні двох чи більше бактеріальних культур, скомбінованих в залежності від бажаного профілю бродіння та представлених найчастіше молочнокислими бактеріями.

Бактеріально-ферментні біопрепарати.

Цей підхід має на меті розщеплення складних полімерних вуглеводів, таких як целюлоза, геміцелюлоза, лігнін на мономерні складові завдяки каталізу амілолітичних ферментів, внаслідок чого спостерігається підвищення доступності субстрату для бродіння бактеріальною складовою препарату. В Україні препаратом такого типу є «Літосил-плюс», до складу якого входять культури *Streptococcus faecium*, *Lactobacillus salivarius* та *L. casei*, а також ферментний комплекс (целюлоза, пектиназа, бета-глюканаза, ксиланаза). В дослідженнях Сироватко [32] і Курнаєва [33] цей препарат за застосування на силосі люцерни показав свою ефективність в збереженні сухих речовин та протеїну за одночасного зниження вмісту клітковини, та покращеного співвідношення органічних кислот. Серед закордонних препаратів можна знайти наступні: Lactacel L що містить *L. plantarum* С ККР/788/р, *L. plantarum* К ККР/593/р, *L. brevis* ККР 839, *L. buchnerii*

ККР/907/р та комплекс кормових ферментів (переважно глюкоамілазу), Feedtech F18 (*L. plantarum* (NCIB 30083, 30084), *Pediococcus acidilactici* (NCIB 30085, 30086), целюлаза), Josilac (*L. plantarum* (DSM № 11672), *P. acidilactici* (DSM № 11673), целюлаза), які теж показують гарні результати в якості силосу [34, 35].

Комбіновані бактеріальні біопрепарати

Дослідження комбінованих препаратів першого типу почалося з роботи Нідерландських вчених - Driehuis зі співавторами [36], в якому повідомляється, що внаслідок використання комбінації гомоферментативних культур *Pediococcus pentosaceus* і *Lactobacillus plantarum* з гетероферментативною культурою *L. buchneri*, порівняно з окремим застосуванням збільшується аеробна стабільність силосу, вміст молочної кислоти, та значно зменшується рН і втрати сухих речовин. Основною перевагою даного підходу є збалансована якість готового силосу і тривалий його захист навіть після відкриття силосу.

На Україні, як і за кордоном всі препарати є гетерогенними за складом і властивостями. Наявна велика кількість досліджень присвячених дослідженню якості силосу, отриманих з застосуванням комбінованих бактеріальних препаратів, проте їх ефективність постійно доповнюється новими даними [34, 35, 37, 38].

1.2. Механізми консервувальної дії бактеріальних культур в процесі силосування.

Силосувальна мікробіота представлена різними типами бродильного метаболізму. Зокрема, за анаеробних умов в цій мікробній спільноті переважають процеси молочнокислого та пропіоновокислого бродіння. Метаболіти, що утворюються мають сильно виражену антибактеріальну та антигрибкову активність, що забезпечують консервувальну дію закритого силосу. За використання комбінованих бактеріальних препаратів в силосуванні як і для природного процесу характерним є взаємодія бактеріальних культур в сировині, що і визначає її кінцеву якість. Для опису цієї взаємодії спочатку необхідно розуміти основні властивості різних

представників окремо. В залежності від профілю бродіння бактерії, що використовуються поділяють на молочнокислих бактерій, з облігатно гомоферментативним, облігатно або факультативно гетероферментативним типом бродильного метаболізму та пропіоновокислих бактерій.

Гомоферментативні молочнокислі бактерії

Довгий час до того, як було встановлено різницю в метаболізмі між групами облігатно гомоферментативних та факультативно гетероферментативних молочнокислих бактерій їх об'єднували просто під назвою гомоферментативних [39]. Найбільше описані, та найчастіше використовуються лише декілька їх представників - *Lactobacillus plantarum*, *L. acidophilus*, *L. casei*, *L. rhamnosus*, *Enterococcus faecium*, *P. acidilactici*, *P. pentacaceus*. Всі перелічені представники характеризуються як найкращі кислотоутворювачі. Це пояснюється швидким продукуванням переважно одного метаболіту в навколишнє середовище, а саме молочної кислоти. В умовах конкуренції за легкодоступні вуглеводи в гетерогенній спільноті силосу, збільшення вмісту молочної кислоти спричиняє зниження рН середовища, що дає перевагу в домінуванні гомоферментативних бактерій. Проте, за постійного зниження рН, активність домінуючих бактерій також поступово знижується, і за значень близько 4,0-4,2 од. ферментативні реакції зупиняються. Однак в межах своєї групи, ці представники різняться і за швидкістю росту – *Enterococcus* > *Pediococcus* > *Lactobacillus*. Крім того, педіококи мають ширший діапазон оптимальної температури та рН росту (мають кращу адаптивну активність за нижчих температур) [40].

Окрім консервуючого впливу молочної кислоти, гомоферментативні бактерії мають ряд інших метаболітів, які проявляють антагонізм проти небажаної мікрофлори. Зокрема, останнім часом дослідники знаходять активні штами-продуцентів бактеріоцинів. Починаючи з 2000 року з різної сировини виділялися штами *L. plantarum* з здатністю до синтезу антигрибкових речовин. Першими в своїй роботі *Lavermicocsa* та співавтори [41] виявили в хлібній заквасці штаму *L. plantarum* 21В з високою

антигрибковою активністю. Зокрема, при сумісному культивуванні штам успішно інгібував багатьох представників грибів родів *Eurotium*, *Penicillium*, *Endomyces*, *Aspergillus*, *Monilia* та *Fusarium*. При хімічному аналізі культуральної рідини було виявлено високу концентрацію феніллактату. В наступному дослідженні Strom з колегами [42], з трав'яного силосу виділили та ізолювали штам *L. plantarum* MiLAB 393. Характерним для цього штаму є синтез окрім 3-феніллактату, циклічних дипептидів з антигрибковою активністю, таких як цикло(L-фенілаланін–L-пролін) та цикло(L-фенілаланін-транс-4-ОН–L-пролін). Найбільша чутливість до цих сполук була у грибів *Fusarium sporotrichioides*, *Aspergillus fumigatus* і дріжджів *Kluveromyces marxianus*. З досліджень Dieuleveux та співавт. [43-45] можна оцінити і антибактеріальну активність 3-феніллактату, зокрема в ньому показано інгібування ряду як грампозитивних бактерій – *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Bacillus cereus*, так і грамнегативних, таких як *Salmonella enterica*, *Escherichia coli*, *Providencia stuartii*, *Klebsiella oxytoca*.

Наявність подібних сполук є важливим в забезпеченні активної боротьби з сторонньою мікробіотою як в анаеробних так і в аеробних умовах, проте знайти і виділити з природніх умов штами зі здатністю продукувати бактеріоцини в достатніх концентраціях дуже складно. Тому деякі дослідження [46, 47] повідомляють про зниження аеробної стійкості за використання гомоферментативних молочнокислих бактерій. Вчені пов'язують цей ефект з малими концентраціями оцтової кислоти, яка є сильним антигрибковим агентом, та високими концентраціями молочної кислоти, яка в аеробних умовах є гарним ростовим субстратом для дріжджів.

Окрім того, є значний іноземний досвід по трансформації гомоферментативних бактерій векторами з генами кодуєчими целюлозолітичні ферменти. Використання таких генетично модифікованих штамів має на меті розкладання кислотно- та нейтрально детергентної клітковини (КДК та НДК). Прикладом є дослідження Ozkose з співавт. [48],

де було трансформовано рекомбінантними плазмідами з генами целюлаз штами *Lactococcus lactis* IL403 та MG1363. В результаті використання цих штамів вплинуло на зменшення КДК та НДК на 4,8 та 9,7 % відповідно.

Легкодоступні вуглеводи в силосі використовуються гомоферментативними бактеріями для їх росту та переважно для конверсії в молочну кислоту, попри те, значного споживання не спостерігається. Окрім того, використання такого типу бактерій в препаратах для силосування забезпечує зниження деградації білків в сировині.

Гетероферментативні молочнокислі бактерії

Наступна група молочнокислих бактерій представлена облігатно гетероферментативними бактеріями. В літературі серед представників цієї групи переважно можна знайти *L. buchneri*, дещо рідше *L. brevis*, *L. diolivorans*, *L. hilgardii*, *L. kefirii*, *L. parafarraginis*. Відмінність облігатно- від факультативно-гетероферментативних в тому, що оцтова кислота утворюється не лише в фосфокетотлазному шляху, а і при додатковому окисненні лактату в анаеробних умовах. Додатково лактат окислюється до 1,2-пропандіолу. До подальшого перетворення 1,2-пропандіолу здатні види *L. diolivorans* та *L. reuteri*, зокрема, перший метаболізує його до 1-пропанолу та пропіонової кислоти, а другий до пропіональдегіду та пропіонової кислоти [49]. Всі наведені вище сполуки включаючи оцтову кислоту та 1,2-пропандіол володіють широким спектром бактерицидної та фунгіцидної активності. Використанням цієї особливості характеризується застосування гетероферментативних видів для підвищення стійкості до погіршення силосу в аеробних умовах. Найкраще описано вплив гетероферментативного метаболізму на бродіння сировини на прикладі *L. buchneri* в мета-аналізі проведеного вченими Kleinschmit і Kung [50]. В цьому дослідженні аналізувалися 43 експерименти з цією культурою в силосі з кукурудзи та трави. Одержані результати показали, що обробка *L. buchneri* в порівнянні з необробленим кукурудзяним силосом призводить до підвищення рН, за рахунок зміни співвідношення молочної та оцтової кислот з 3:1 в

необробленому силосі до близько 2,3:1 та 1,3:1 для низької та високої дози інокуляції відповідно. Щодо трав'яного силосу, то співвідношення від 5,3:1 для необробленого силосу знизилося до 0,8:1 та 0,6:1 для тих самих доз. Щодо споживання водорозчинних вуглеводів, то для кукурудзяного силосу їх вміст в необробленому силосі, та обробленому низькою і високою дозою *L. buchneri* в середньому зменшується на 3,8 та 14,8 % відповідно. Для силосу з трав ці втрати є більшими, і становлять 34,6 та 53,8 %. Такі втрати пояснюються окрім продукування молочної кислоти додатково оцтової, 1,2-пропандіолу та виділення значної кількості CO₂. Проте, попри втрати за анаеробних умов, в цьому дослідженні встановлено, що інокуляція *L. buchneri* значно зменшує вміст дріжджів та тим самим підвищує аеробну стійкість силосу. Було встановлено що значення аеробної стійкості інокульованого кукурудзяного силосу зросло порівняно з необробленим від 25 до 503 год, а для трав'яного – з 206 до 245 год. Ці результати знову підтверджують думку, що для кожної сировини необхідно підбирати свій оптимальний склад препаратів для силосування та дози складових, які не будуть зменшувати поживну цінність певного силосу.

Крім покращеної аеробної стійкості, деякі штами *L. buchneri* здатні виробляти естеразу ферулової кислоти в силосі з потенціалом підвищення засвоюваності лігніну [51]. Однак результати досліджень в цій області [52-55] є далеко не однозначними, в них показано, що залежність здатності продукувати естеразу від умов є непередбачуваною.

Як і гомоферментативні лактобацили, гетероферментативні види також здатні до синтезу бактеріоцинів. Так є декілька досліджень в яких *L. hilgardii* *L. diolivorans* здатні до синтезу пептидів з протигрибковою активністю. Згідно дослідження Valerio з співавт [56]. *L. hilgardii* здатен до синтезу фенілактату та 4-гідроксифенілактату.

Варто додати, що через невисоку швидкість росту та кислотоутворення гетероферментативні види молочнокислих бактерій в силосі найкраще проявляють себе за умов, коли активність всієї мікробіоти, включаючи

гомоферментативних молочнокислих бактерій знижується, адже за рахунок свого метаболізму гетероферментативні лактобацили мають механізми стійкості до високої кислотності в анаеробних умовах, а саме – розкладання механізм утворення з молочної кислоти - оцтової.

Пропіоновокислі бактерії

Для покращення стійкості до аеробної деградації силосу використовуються і види *Propionibacterium*. Як і в випадку багатьма видами гетероферментативних молочнокислих бактерій, механізм захисту пропіоновокислих бактерій полягає в синтезі пропіонової та оцтової кислот. Представники цього роду здатні ферментувати глюкозу та лактат [57]. Проте для них порівняно з лактобактеріями пропіонова кислота є основним метаболітом, саме тому їх використовують замість додавання екзогенної пропіонової кислоти [58]. Найпоширенішими представниками що застосовувалися є *P. acidipropionici* та *P. shermanii*. Зазначається [15], що пропіоновокислі бактерії погано переносять кислотні умови і мають повільний ріст. Згідно з цим, очікувати ефект від їх додавання можна лише на перших стадіях, коли рН силосу тільки починає спадати, і пропіонова кислота необхідна для ефективної боротьби з дріжджовими та пліснявими формами, до того часу, поки не встановляться повністю анаеробні умови.

1.3. Вплив комбінованих біопрепаратів на якість готового силосу.

Комбінованим препаратам для силосування рослинної сировини присвячено багато досліджень, що мають різні підходи до вибору складу препаратів. Першочергово, як було згадано в попередніх пунктах, на використання тої чи іншої складової впливає сировина, що піддається ферментації, та її хімічні особливості. Найбільше поширеним вибором є використання диких ізольованих культур з місць природнього функціонування, зокрема із силосу спонтанного бродіння [59-63].

Для виявлення ефективних комбінацій бактеріальних культур необхідно оцінити профіль ферментації цих культур. Виходячи з проаналізованих досліджень за останні 5 років було розглянуто вплив на ферментацію

ефективних комбінованих інокулянтів. В цьому пункті розглядаються ефекти застосування 19 комбінованих препаратів на різній сировині (кукурудзі, траві, рисовій соломі, луговій траві, люцерні, цукровій тростині). Назви та склад препаратів наведені в табл. 1.2. Всі обрані препарати поєднували в собі декілька штамів різних родів, видів, з різними типами метаболізму. В деяких препаратах культури комбінувалися з дією целюлозолітичних ферментів.

Таблиця 1.2

Назви та склад комбінованих біопрепаратів для силосування

№	Назва препарату	Склад	Джерело
Препарати для силосування кукурудзи			
1	PIONEER® 11CFT (P11CFT)	<i>L. casei</i> 32909, <i>L. buchneri</i> LN 40177	[64]
2	SILASIL ENERGY® (SE)	<i>L. plantarum</i> NCIMB 30142, <i>L. buchneri</i> NCIMB 30141	[58]
3	Biomin® BioStabil Mays (BBSM)	<i>L. plantarum</i> DSM 19457, <i>L. kefir</i> DSM 19455, <i>L. brevis</i> DSM 23231	[65]
4	Сеносил (СС)	<i>L. lactis</i> ssp. <i>lactis</i> biovar <i>diacetylactis</i> , <i>Streptococcus thermophilus</i> , <i>L. acidophilus</i> , <i>L. plantarum</i> , <i>L. brevis</i> , <i>L. rhamnosus</i> , <i>L. paracasei</i> ssp. <i>paracasei</i> , <i>Propionibacterium shermanii</i> subsp. <i>shermanii</i>	[66]
5	Litosil Plus (LP)	<i>S. faecium</i> , <i>L. salivarius</i> , <i>L. casei</i> , целюлоза, пектиназа, бета-глюканаза, ксиланаза	[67]
6	PIONEER® 11C33 (P11C33)	<i>L. buchneri</i> LN4637, <i>L. plantarum</i> LP286, <i>L. plantarum</i> LP329, <i>E. faecium</i> SF301	[61, 68]
7	Силакпро (СП)	<i>L. plantarum</i> , <i>Enterococcus faecium</i> , <i>Pediococcus pentosaceus</i> , <i>Pr. freidenreichii</i> subsp	[69]
Препарати для силосування люцерни			
8	Litosil Plus (LP)	<i>S. faecium</i> , <i>L. salivarius</i> , <i>L. casei</i> , целюлоза, пектиназа, бета-глюканаза, ксиланаза	[67]
9	Силакпро (СП)	<i>L. plantarum</i> , <i>E. faecium</i> , <i>Pd. pentosaceus</i> , <i>Pr. freidenreichii</i> subsp	[69]
Препарати для силосування трави			
10	Biomin® Stabil Plus (BSP)	<i>E. faecium</i> BIO 34 (DSM 3530), <i>L. brevis</i> IFA 92 (DSM 19456), <i>L. plantarum</i> IFA 96 (DSM 19457)	[70]
11	DeLaval® Feedtech F18 (DFF18)	<i>L. plantarum</i> (NCIB 30083, 30084), <i>Pr. acidilactici</i> (NCIB 30085, 30086), cellulase	[64]
12	Josera® Josilac (JJ)	<i>L. plantarum</i> (DSM № 11672), <i>Pr. acidilactici</i> (DSM № 11673), cellulase	[64]
13	DeLaval® Feedtech F22 (DFF22)	<i>L. plantarum</i> (LSI та L-256), <i>Pr. acidilactici</i> (P6 та P11) <i>Lactococcus lactis</i> (SR354 NCIMB 30117), <i>E. faecium</i> (M74 NCIMB 11181), cellulase, sodium benzoate	[64]

14	Lactosil (LCS)	<i>L. plantarum</i> С ККР/788/р, <i>L. plantarum</i> К ККР/593/р, <i>L. brevis</i> ККР 839, <i>L. buchneri</i> ККР/907/р	[71]
15	Lactacel L (LCL)	<i>L. plantarum</i> С ККР/788/р, <i>L. plantarum</i> К ККР/593/р, <i>L. brevis</i> ККР 839, <i>L. buchnerii</i> ККР/907/р, комплекс ферментів (альфа амілази)	[65]
16	Lactosil Plus (LCSP)	<i>L. plantarum</i> С ККР/788/р, <i>L. plantarum</i> К ККР/593/р, <i>L. buchneri</i> ККР/907/р, комплекс ферментів	[65]
17	Lactosil Biogaz (LCSB)	<i>L. buchneri</i> А ККР 2047р, <i>L. reuteri</i> М ККР 2048р, <i>L. diolivorans</i> К ККР 2057р	[65]
Препарати для силосування цукрової тростини			
18	Kera SIL (KS)	<i>L. plantarum</i> , <i>P. acidipropionici</i>	[72]
Препарати для силосування рисової соломи			
19	Немає (П1)	<i>L. plantarum</i> , <i>L. casei</i> та <i>L. buchneri</i>	[73]
Препарати для силосування пшениці			
19	Немає (П2)	<i>L. plantarum</i> FG 1 та целюлаза	[74]
20	Немає (П3)	<i>L. casei</i> Z3-1 та целюлоза	[68]
Препарати для силосування бобово-злакової сумішки			
21	Силакпро (СП)	<i>L. plantarum</i> , <i>E. faecium</i> , <i>Ped. pentosaceus</i> , <i>Pr. freidenreichii</i> subsp	[69]

Основними показниками, якими виражають оцінку впливу біопрепаратів на якість одержаного силосу є вміст сухих речовин, рівень рН, співвідношення органічних кислот, та аеробна стійкість.

Так, в табл. 1.3-1.9 наведені мета-данні по впливу різних біопрепаратів на параметри силосу з різної сировини.

Аналіз впливу біопрепаратів на силос кукурудзи

При використанні комбінованих препаратів на кукурудзі результати можуть бути досить неоднорідними, проте загальна тенденція досліджень вказує на підвищення якості силосу (табл.1.2). Найкраще збереження сухих речовин (СР) порівняно з необробленим препаратами контролем прослідковується при обробці препаратами LP, СП, P11CFT, BBSM [64, 65, 67, 69]. Найбільш спірно в збереженні СР проявляє себе препарат P11C33, адже кінцеві значення мають велику розбіжність [61, 62]. Згідно досліджень недостатньо високі показники приросту вмісту СР досягаються за обробки препаратами SE та CC [58, 60]. Щодо зміни вмісту сирого протеїну, то серед всіх препаратів лише для силосів оброблених CC [60] та P11C33 (в одному з

досліджень [62]) вміст знижується, всі інші ж або зовсім не зазнають особливих змін.

Рівень рН для всіх препаратів, окрім BBSM [59] та LP [61], відмічається на декілька десятих одиниць більші значення за контроль. Це пояснюється наявністю в усіх цих препаратах гетероферментативних бактерій. Винятком є лише СП [63], проте важко пояснити чому при гомоферментативному профілі бродіння, та вищому вмісті молочної кислоти ніж у контролі, активна кислотність все ж зростає. При порівнянні співвідношення органічних кислот, то найбільше зміщення рівноваги в сторону гомоферментативного бродіння було характерне для СП [63], та P11C33 [61, 62], при 60-денному культивуванні, тоді як в сторону гетероферментативного для P11CFT [58], і SE [58] та для LP [61]. Данні що стосуються аеробної стійкості наявні не для всіх препаратів, проте серед знайдених найбільшу стійкість проявляє P11CFT [58] і SE [58], що становить >182 год., а також BBSM [59] – 219 год. Проаналізувавши інформацію наведену в табл. 1.3 можна підсумувати вищесказане, та виділити P11C33 як найбільш спірний препарат, що має різну ефективність в різних випробуваннях. Найбільш стабільний ефект для силосування кукурудзи проявляють препарати P11CFT та BBSM.

Таблиця 1.3

Вплив біопрепаратів на показники силосу кукурудзи

№	Препарат *	Тривалість процесу, діб	Вміст СР, %		Протеїн, %		рН	Співвідношення кислот, %				Аеробна стійкість, год.
			В сировині	В готовому силосі	В сировині	В готовому силосі		Молочна к-та	Оцтова к-та	Пропіонова к-та	Масляна к-та	
1	Контроль	60	-	29,6	-	2,2	4,2	66,5	35,5	-	0,02	-
	LP			30,1		2,3	4,1	66,2	33,8	-	0	-
	P11C33			30,2		2,4	4,0	68,4	31,6	-	0	-
2	Контроль	60	-	35,0	-	8,2	3,5	76,8	23,2	-	0	-
	P11C33			30,5		7,0	3,7	79,2	20,9	-	0	-

3	Контроль	66	27,5	26,5	7,4	6,9	3,8	62,1	37,8	-	-	-
	СП			26,8		7,2	4,1	76,8	23,2	-	-	-
4	Контроль	90	36,1	36,0	8,2	8,4	3,8	61,8	10,2	28,1	0	154
	P11CFT			36,8		8,3	4,2	31,3	50,6	18,1	0	>182
	SE			35,1		8,3	4,3	23,4	54,7	21,9	0	>182
5	Контроль	90	35,5	32,6	10,1	10,1	3,9	43,4	17	0,2	0,39	92
	BBSM			33,2		10,3	3,9	58,4	18,7	0,2	0,05	219
6	Контроль	120	-	34,5	-	8,5	4,1	62,5	25,5	-	0	-
	СС			27,8		7,9	3,9	66,5	32,5	-	0	-
7	Контроль	210	-	29,2	-	1,8	3,7	62,3	37,7	-	0,02	-
	LP			29,4		2,2	4,0	63,6	36,4	-	0	-
	P11C33			28,6		2,3	3,8	67,8	32,2	-	0	-
8	Контроль	240	-	28,0	-	7,3	3,7	67,7	32,3	-	0	-
	P11C33			28,4		8,3	4,1	74,5	25,5	-	0	-

*Примітка: Контроль – силосування без додавання препарату. Препарати: LP – Litosil Plus [67], P11C33 – PIONEER® 11C33 [61, 68], СП – Силакпро [69], SE – SILASIL ENERGY® [52], BBSM – Biomin® BioStabil Mays [65], СС – Сеносил [66], P11CFT - PIONEER® 11CFT [64].

Аналіз впливу біопрепаратів на силос люцерни

Для силосу люцерни, найкраще справляється з силосуванням LP [61], навіть при умові високої вологості сировини, а саме понад 73,4%. Загалом для обох проаналізованих препаратів характерна гарна пропорція органічних кислот, зниження рН та збереження сухих речовин і протеїну порівняно з контролем (табл. 1.4) [61, 63]. Тому, підсумовуючи, LP і СП в схожій мірі покращують якість одержуваного силосу.

Таблиця 1.4

Вплив біопрепаратів на хімічні показники силосу люцерни

№	Препарат*	Тривалість процесу, діб	Вміст СР, %		Протеїн,%		рН	Співвідношення кислот, %		
			В сировині	В готовому силосі	В сировині	В готовому силосі		Молочна к-та, %	Оцтова к-та, %	Масляна к-та, %
1	Контроль	-	49,5	45,4	20,6	18,3	4,6	73,5	26,5	0
	LP			46,9		19,7	4,5	80,3	19,7	0
2	Контроль	-	26,6	15,7	21,4	12,1	6,3	49,2	36,2	14,6
	LP			18,1		19,2	4,6	78,9	21,1	0
3	Контроль	66	65,5	67,9	19,7	18,3	4,7	62,4	37,6	-
	СП			69,3		19,1	4,5	70,4	29,6	-

*Примітка: Контроль – силосування без додавання препарату. Препарати: LP – Litosil Plus [67], СП – Силакпро [69].

Аналіз впливу біопрепаратів на силос трави

При аналізі препаратів, що використовуються для силосування трави (табл. 1.5) варто відмітити препарати LCSB, LCS та BSP, адже вони сприяли найкращому збереженню сухих речовин, та підвищенню аеробної стійкості силосу в 204, 235, та >232 годин відповідно. Проте ці значення характерні для силосу низької вологості. При збільшенні вологості трави ефективність використання препаратів різко знижується, і навіть контроль має кращі результати [65].

Таблиця 1.5

Вплив біопрепаратів на хімічні показники силосу трави

№	Препарат *	Тривалість процесу, дів	Вміст СР, %		Протеїн,%		рН	Молочна к-та, % СР	Оцтова к-та, % СР	Пропіонова к-та, % СР	Масляна к-та, % СР	Аеробна стійкість, год.
			В сировині	В готовому силосі	В сировині	В готовому силосі						
1	Контроль	12	-	50,1	-	-	5,7	2,1	0,8	-	0,23	177,6
	LCS			52,0	-	-	5,4	4,0	0,8	-	0,09	235,2
	LCL			44,4	-	-	5,1	3,3	0,7	-	0,03	206,4
	LCSP			48,0	-	-	5,4	2,9	0,9	-	0,06	192
	LCSB			54,5	-	-	4,5	2,4	0,2	-	0,01	204
2	Контроль	92	35,9	30,7	12,1	14,1	4,4	14,1	2,1	0,9	0	-
	BBSM					32,8	13,4	4,0	8,3	2,3	0,4	0,18
3	Контроль	92	34,5	32,7	8,8	9,2	5,1	9,8	1,1	0,3	0,38	-
	BBSM					34,1	9,5	4,2	1,1	1,8	0,4	0
4	Контроль	102	21,8	21,7	16,3	-	4,3	8,9	4,6	0,1	0,006	330
	BSP			22,2		-	3,9	12,5	2,4	0,007	0,22	133
	DFF18			21,9		-	3,8	12,3	1,0	0	0,07	29
	JJ			22,2		-	3,7	13,5	1,1	0,003	0,01	35
	DFF22			22,1		-	3,7	13,5	1,1	0,003	0,06	62
5	Контроль	102	53,9	54,3	19,2	-	5,4	6,4	6,7	0,04	0,32	>232
	BSP			57,3		-	4,3	41,4	13,5	0,06	0,17	>232
	DFF18			53,2		-	4,1	58,2	7,4	0,06	0,25	>232
	JJ			56,8		-	4,5	36	6,4	0,05	0,27	>232
	DFF22			55,3		-	4,3	49,2	7,0	0,07	0,23	>232

***Примітка:** Контроль – силосування без додавання препарату. Препарати: LCS Lactosil – [71], LCL - Lactacel L [65], LCSP – Lactosil Plus [65], LCSB – Lactosil Biogaz [65], BBSM – Biomin® BioStabil Mays [65], BSP – Biomin® Stabil Plus [69], JJ - Josera® Josilac [64], DFF22 - DeLaval® Feedtech F22 [64].

Аналіз впливу біопрепаратів на силос цукрової тростини

Препарат KS має значимий вплив на силосування цукрової тростини (табл. 1.6), адже в загальному спостерігається покращення всіх показників. Це свідчить про перспективність його бактеріального складу. Проте підвищений порівняно з контролем вміст масляної кислоти є ознакою присутності клостридій, що важко пояснити при зазначеному рН 3,22, тому пояснити такий ефект важко, хоча насправді її вміст все одно є низьким [66].

Таблиця 1.6

Вплив біопрепаратів на хімічні показники силосу цукрової тростини

№	Препарат *	Тривалість процесу, діб	Вміст СР, %		Протеїн,%		рН	Молочна к-та, % СР	Оцтова к-та, % СР	Пропіонова к-та, % СР	Масляна к-та, % СР	Аеробна стійкість, год
			В сировині	В готовому силосі	В сировині	В готовому силосі						
1	Контроль	60	28,2	21,8	2,5	3,45	4,2	13,4	0,6	0,01	0,042	32
	KS			27,5		3,9						

*Примітка: Контроль – силосування без додавання препарату. KS - Kera SIL [72].

Аналіз впливу біопрепаратів на силос рисової соломи

Вплив препарату П1 на силосування рисової соломи (табл. 1.7), особливо не відрізняється в анаеробних умовах. І лише після відкриття силосу помітна різниця, що виявляється в значно більшій аеробній стійкості обробленого силосу [67].

Таблиця 1.7

Вплив біопрепаратів на хімічні показники силосу рисової соломи з додаванням кукурудзяного лікеру

№	Препарат *	Тривалість процесу, діб	Вміст СР, %		Протеїн,%		рН	Молочна к-та, % СР	Оцтова к-та, % СР	Аеробна стійкість, год.
			В сировині	В готовому силосі	В сировині	В готовому силосі				
1	Контроль	60	40	39,28	9,95	10,26	4,45	4,02	1,13	56
	П1			39,98		10,39				

*Примітка: Контроль – силосування без додавання препарату. П1 – препарат без назви І [83].

Аналіз впливу біопрепаратів на силос пшениці

Серед показників силосу пшениці (табл. 1.7), які покращує обробка препаратами П2 і П3 в порівнянні з контролем, можна відмітити лише знижений рівень рН та покращене співвідношення органічних кислот. На вміст сухих речовин, та сирого протеїну препарати майже не впливають [66].

Таблиця 1.8

Вплив комбінованих біопрепаратів на показники силосу пшениці

№	Препарат*	Тривалість процесу, днів	Вміст СР, %		Протеїн,%		рН	Молочна к-та, %	Оцтова к-та, %	Масляна к-та, %
			В сировині	В готовому силосі	В сировині	В готовому силосі				
1	Контроль	30	92,11	92,11	4,63	4,52	5,02	0,93	0,37	0,64
	П2			92,28		4,64	3,98	2,77	0,19	0,23
	П3			92,21		4,69	4,03	3,02	0,24	0,31

*Примітка: Контроль – силосування без додавання препарату. П2 – препарат без назви 2 [64], П3 – препарат без назви 3 [68].

Аналіз впливу біопрепаратів на силос бобово-злакової сумішки

Для силосу бобово-злакової сумішки, в разі додавання СП, відмічається покращення співвідношення молочної та оцтової кислот, та значне збереження сухих речовин, зокрема протеїну (табл. 1.9) [63].

Таблиця 1.9

Вплив біопрепаратів на хімічні показники силосу бобово-злакової сумішки

№	Препарат*	Тривалість процесу, днів	Вміст СР, %		Протеїн,%		рН	Співвідношення кислот, %	
			В сировині	В готовому силосі	В сировині	В готовому силосі		Молочна к-та	Оцтова к-та
1	Контроль	66	68,4	70,4	15,4	15,4	4,4	55,3	44,6
	СП			70,7		15,8		4,6	68,5

*Примітка: Контроль – силосування без додавання препарату. СП – Силакпро [69]

1.4. Вибір агрегатної форми для зберігання силосувальних властивостей комбінованого препарату

Вибір кінцевої форми препарату, перш за все впливає на прояв досягнутої при розробці ефективності бактеріальних препаратів після їх зберігання та транспортування. На ринку силосних біопрепаратів можна знайти продукцію як в рідкому, так і в сухому вигляді. Загальна оцінка досліджень по ефективності двох цих форм виявляє перевагу рідкої форми за рахунок збереження нативної активності бактерій в таких препаратах. Зокрема, такий препарат, по своїй суті є концентратом культуральної рідини, яку перед застосуванням достатньо розбавити водою. Проте, недоліком є сезонність використовуваного рідкого препарату внаслідок старіння та голодування бактеріальних культур, а також ряд інших факторів, що знижують активність бактерій в ньому при зберіганні та транспортуванні [75, 76].

Головним аргументом на користь сухої форми біопрепарату є довготривалий термін зберігання при більш широкому діапазоні температур, порівняно з рідкою формою. Це досягається за рахунок знаходження бактерій в стані анабіозу. Для активізації бактеріальні клітини в складі препарату необхідно реанімувати в невеликих ємностях з повноцінним поживним середовищем на протязі доби. Проте, більшість виробників сухих препаратів рекомендують просто розводити порошок водою, але повідомляється [75], що це призводить до тривалої реактивації клітин в рослинній сировині, яка піддається обробці. Зокрема, в експериментах за порівняння рідкого та сухого препарату, час затримки росту для другого був більшим на 13,5 годин [75, 77, 78]. Kizilsimsek з співавторами, в своєму дослідженні провели повний хімічний аналіз силосу при застосуванні різних форм препаратів, який підтвердив кращу ефективність від застосування рідкої форми, за рахунок значно швидшого синтезу молочної кислоти, і як результат більш низького рН. Особливо це помітно в визначальний для силосу період - з 6 по 24 годину після обробки та герметизації сировини [79].

Ефективність обраної форми також зможе залежати і від вологості сировини. При високій вологості (близько 70%) різниці немає, а при її зменшенні до 56% краще зниження значень активної кислотності під час силосування відмічалось при додаванні рідкого препарату [80].

Важливо відзначити, що в умовах поєднання декількох видів організмів, такі комбіновані препарати значно краще проявлятимуть ефективність за їх висушування, внаслідок того, що композиції бактерій мають більш вибагливі умови до тривалого спільного росту, і в обмеженому тарю просторі їх активність при такому зберіганні різко втрачатиметься [75].

Підсумовуючи розділ, варто зазначити, що найбільш вдалі композиції створюються на основі поєднання представників декількох альтернативних типів молочнокислого метаболізму. Зокрема, щоб визначити які бактеріальні види мають входити до препарату, перш за все мають бути визначені хімічні показники сировини та природня мікробіота силосу. В разі підвищених концентрацій збудників бактеріального псування сировини, найбільш ефективно розробляти склад на основі активних кислотоутворювачів, тоді ж як дріжджове та грибкове забруднення потребує більш широкого спектру метаболітів з сильними антимікробними властивостями. Високий вміст водорозчинних вуглеводів разом з високою буферною ємністю силосу потребують використання гетероферментативного молочнокислого або/та пропіоновокислого профілю бродіння. Розвиток представників цих метаболізмів призводить до збільшення споживання вуглеводів в процесі силосування, проте на відміну від гомоферментативних молочнокислих бактерій, одночасно дозволяє використати штами менше залежних від рівню рН та більш ефективних механізмів пригнічення сторонньої мікробіоти силосу. Окрім того, ефективність прояву препарату залежить не тільки від його бактеріального складу а й форми в якій препарат застосовуються. Зокрема, попри певні втрати в активності для комбінованих силосувальних препаратів найкраще підходить суха форма.

РОЗДІЛ 2. ОСОБЛИВОСТІ ОПТИМІЗАЦІЇ СКЛАДУ ПОЖИВНОГО СЕРЕДОВИЩА

2.1. Джерела поживних речовин в забезпеченні ростових потреб біологічних агентів для силосування

Для накопичення необхідної біомаси молочнокислих бактерій, важливим етапом планування процесу культивування є забезпечення оптимальних умов для їх росту. Одним з визначальних параметрів, які впливають на накопичення біомаси є повноцінність поживного середовища. Найперше, від чого залежать біосинтетичні процеси клітин це – джерело вуглецевого та енергетичного живлення та його концентрація. Велика частина субстрату в клітинах молочнокислих бактерій витрачається на синтез органічних кислот, тому найчастіше ріст бактерій першочергово лімітується спорідненістю з ним, та його концентрацією.

Як було згадано в пункті 1.1.1., основними джерелами вуглецю в рослинній сировині, що є доступними для силосної мікробіоти є водорозчинні вуглеводи в клітинному соку – глюкоза і фруктоза. Для зменшення часу адаптації до нового середовища в природніх умовах, однією з умов вирощування бактеріальних культур є необхідність використання ростових середовищ що містять ті ж вуглеводи що і сировина.

Наступним лімітуючим фактором є азотне живлення. Відомо, що молочнокислі бактерії через ріст на складних субстратах є ауксотрофами за рядом амінокислот, і потреба в них варіюється від штаму до штаму [81]. Тому до ростових середовищ для молочнокислих бактерій мають входити джерела, що здатні комплексно забезпечити їх потреби. В якості таких джерел використовують гідролізати білків м'яса, лактоальбуміну, казеїну та різних видів муки [82]. Також повідомляється [83], що окрім них, багатими джерелами амінокислот, поліпептидів є дріжджовий, та кукурудзяний

					НУХТ БТЕК 02.01.07 КР ПЗ			
<i>Змн.</i>	<i>Арк.</i>	<i>№ докум.</i>	<i>Підпис</i>	<i>Дата</i>				
<i>Розробив</i>		Хоньків М.О.			РОЗДІЛ 2. ОСОБЛИВОСТІ ОПТИМІЗАЦІЇ СКЛАДУ ПОЖИВНОГО СЕРЕДОВИЩА	<i>Літ.</i>	<i>Арк.</i>	<i>Акрушів</i>
<i>Перевірив</i>		Тетеріна С.М.					30	7
<i>Консульт.</i>						Кафедра БТМ		
<i>Н. контр</i>								
<i>Затверд.</i>		Пирог Т.П.						

екстракти. Останній з них, є дешевою альтернативою азотного живлення - містить 1,2-2,0% амінного азоту в концентраті, що додатково може містити від 0,1-1,1% цукрів, 5-11,5% молочної кислоти.

Те саме стосується і вітамінів, які в середовищі знаходяться переважно у дріжджовому екстракті, дещо менше в кукурудзяному.

Ситуація значно стає складнішою при спільному культивуванні представників різних родів, видів та штамів, що є основною ідеєю комбінованих бактеріальних препаратів для силосування. При такому багатокомпонентному вирощуванні необхідно враховувати всі особливості метаболізму кожної складової культури.

2.2. Підходи в дослідженні оптимальних концентрацій компонентів поживних середовищ

Враховуючи всю складність забезпечення ростових потреб бактерій в світі постійно ведуться дослідження з виявлення залежності приросту біомаси бактерій від субстрату, в яких використовуються різні підходи по підбору компонентів середовища культивування.

Першим підходом, яким користуються дослідники для підбору поживних середовищ, є простий емпіричний підбір. Цей метод широко використовувався до початку ХХІ століття. Зокрема, це можна знайти, наприклад, в дослідженні Fu [84], де було досліджувалася залежність росту від концентрації лактози. В результаті такого дослідження було встановлено, що для штаму *L.plantarum* ATCC 21018 в модифікованих лактозою середовищах МРС, концентрація лактози впливає лише на лаг-фазу, і не впливає на інші фази росту. В діапазоні вмісту лактози 2 – 6 %, найменша лаг-фаза спостерігається при 2% концентрації, і зі збільшенням вмісту субстрату збільшується і тривалість початкового росту. Проте цей спосіб лише наближує до оптимального складу середовища, але знайти за його допомогою найкращий варіант в даних умовах дуже затратно в часі і ресурсах. В наш час ним все частіше користуються лише для тих аспектів, які обмежені в підходах. Так, наприклад, Ма з колегами [85] визначали спектр

ауксотрофності штаму *L. plantarum* ST-III для включення цих амінокислот в середовище культивування. За зміною кислотності при культивуванні з додаванням комбінацій амінокислот було встановлено 6 амінокислот, при додаванні яких починався ріст бактерій.

Як сучасну альтернативу, що дозволяє підвищити результати оптимізації середовища до необхідної точності використовують математичні методи планування, моделювання та аналізу експерименту. Швидкий результат досягається поєднанням наведених методів з статистичним аналізом, що значно скорочує часові та матеріальні ресурси на постановку досліджень. Це особливо важливо при використанні комбінованих препаратів, в яких бактеріальні культури різняться одне від одного за потребами ростових факторів і стійкістю до умов середовища. Зокрема, серед сучасних методів, для цієї цілі часто використовується центральний композиційний план, використання поверхонь відгуку, штучні нейронні мережі та генетичні алгоритми [86, 87].

Щоб вирішити це завдання і підвищити результати до необхідної точності, раціонально використати математичні методи планування експерименту. Зокрема, є повідомлення, що за допомогою методу центрального композиційного плану було оптимізоване середовище для вирощування штаму *L. paracasei subsp. paracasei* В 4079 зі ступенем конверсії субстрату в біомасу і молочну кислоту — близько 100%. Оптимальні концентрації глюкози та інших джерел ростових факторів було визначено за найвищою зоною поверхні відгуку конверсії субстрату [86]. В іншому дослідженні для оцінки впливу компонентів поживного середовища перед використанням центрального композиційного плану використано метод Плакета-Бірмана, в результаті чого за допомогою такої гібридної методології на новому середовищі було накопичено біомаси штаму *L. rhamnosus* PEN на 1,9 г/л більше порівняно з концентрацією на MPC [87]. Більш складна оптимізація ферментаційного середовища для одержання екзополісахариду культурою *L. plantarum* наведена в праці індійських вчених

[88], які застосували методи Плакета-Бірмана, штучних нейронних мереж і генетичних алгоритмів. Зокрема, такий підхід до оптимізації середовища підвищив вихід екзополісахариду на 4,45 г/л порівняно з вихідними характеристиками штаму. Серед інших ефективних підходів можна відмітити використання методів Бокса-Бенкена і масиву Тагуті, які характеризуються підвищенням виходу біомаси порівняно з початковим середовищем на 107%. Особливістю такого підходу є інтегрування двох методів на різних етапах оптимізації, тому збільшення біомаси досягається послідовним використанням методів [89].

У всіх проаналізованих експериментальних дослідженнях [86-89] використання методів математичного моделювання та статистичного аналізу надає можливість збільшити вихід кінцевого продукту порівняно з емпіричною методикою підбору індивідуальних середовищ, а також значно скоротити рівень затрачених ресурсів на досягнення бажаного результату.

Проте, для використання цих методів необхідно визначити стандартні середовища. Представники роду *Lactobacillus* не ростуть або ростуть дуже слабо на поживних середовищах з простими субстратами, тому в переважній більшості дослідники використовують багатокомпонентні середовища зі складними джерелами ростових факторів тваринного і рослинного походження [85, 90]. Так, загальноновживаним є середовище de Man, Rogosa, Sharpe [91]. Це середовище універсальне як для лабораторних так і для великомасштабних ферментацій для вирощування лактобацил, лактококів, педіококів, ентерококів, через гарне забезпечення ростових потреб. Окрім лактобацил на цьому середовищі гарно ростуть і ентерококи [88]. Проте, попри підвищення ростових характеристик, це середовище модифікують під індивідуальні фізіологічні потреби конкретних біологічних агентів. Окрім того, середовище є доволі дорогівартісним, а кожен виробник зацікавлений у зменшенні витрат за рахунок зниження концентрації поживних речовин до необхідного мінімуму або ж за рахунок використання дешевших альтернатив [89].

Перш за все, є повідомлення про використання в середовищі інших вуглеводів замість глюкози, додавання кукурудзяного екстракту, зміни в концентраціях складових середовища, та інші [85, 92]. Також, відзначається, що для кращого накопичення біомаси лактобацил, поживні середовища можна доповнювати томатним соком [93], молочною сироваткою [94], ефірами оцтової та олеїнової кислотами [95], рослинними відварами, овочевими [96] та фруктово-ягідними соками [97, 98], суслем, картопляним відваром [92].

Варто відзначити, що селективність середовища залежить від присутності ацетату натрію, адже саме їх присутність пригнічує ріст бактерій роду *Streptococcus*, цвілевих грибів і також обмежують зростання рухливих мікроорганізмів. Оцтова кислота знижує значення рН, що перешкоджає зростанню багатьох бактерій, сприяючи зростанню лактобацил [99, 100]. Окрім того, внесення таких солей як ацетат натрію, та фосфорнокислого калію збільшує буферну ємність середовища, що дозволяє попередити зниження активності молочнокислих бактерій, внаслідок зниження кислотності від синтезованої ними молочної кислоти [101].

Зокрема, зараз є велика кількість досліджень, по оптимізації поживних середовищ, автори яких стверджують про найкраще забезпечення ростових властивостей певних штамів молочнокислих бактерій, і як наслідок високий приріст біомаси. Так як, за еталонне середовище використовується МРС, то оптимізацію проводять на його основі. Деякі варіації модифікованого МРС наведені в табл. 2. Згідно даних Перш за все, варто відмітити загальну тенденцію, збільшення виходу біомаси при збільшенні в середовищі глюкози. Окрім того, використання змішаного джерела вуглецю (глюкоза + піруват) призводить до найбільшого збільшення біомаси клітин (23 г/л) в складі середовища №5 [102]. Щодо азотного живлення, то найкращий ріст спостерігається при комбінуванні декількох джерел – дріжджового, м'ясного та кукурудзяного екстрактів. Додаткові функції цих компонентів полягає в забезпеченні бактеріальних клітин широким спектром ростових факторів.

Використання пептону дозволяє досягти середніх поміж всіх середовищ концентрацій біомаси, зокрема це стосується середовищ №1 і 2 [86, 92]. Щодо інших компонентів в складі середовищ, то залежність їх впливу на ріст культур доволі неоднозначна, і більше носить характер доповнення потреб, ніж лімітуючий фактор. Так, для середовищ №1-4 [86, 92] як і для класичного МРС характерна наявність солей $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, $MnSO_4 \cdot 4H_2O$, і навіть в невеликих концентраціях їх достатньо. Те саме стосується і наявності $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ та KH_2PO_4 . Проте, інший характер, хоч і неоднозначний носить додавання ацетату натрію а також цитрату амонію. Потреба в них носить рекомендований характер, хоча в деяких середовищах вони можуть міститися в складних компонентах, такі як екстракти тваринного і рослинного походження, або дріжджовий автолізат.

Підсумовуючи розділ, варто зазначити, що молочнокислі бактерії потребують в багатьох факторах росту, і досягають свого максимального потенціалу росту на середовищах з складними субстратами, зокрема найбільш ефективним є використання декількох джерел вуглецевого амінного азоту. Вибір природи субстратів впливає і на адаптацію бактеріальних штамів, що найкраще діють при умові їх спорідненості до умов силосування.

Таблиця 2.1

Літературні дані різного складу оптимізованих варіацій МРС та вплив на концентрацію біомаси молочнокислих бактерій

Випробовуваний штам	Вміст компонентів в середовищі, г (мл)/л													Біомаса (г/л)	Джерела
	Глюкоза	Піруват натрію	Дріжджовий екстракт	М'ясний екстракт	Кукурудзяний екстракт	Пептон	Цитрат амонію	Ацетат натрію	MgSO ₄ ·7H ₂ O	MnSO ₄ ·4H ₂ O	Твін-80	FeSO ₄ ·7H ₂ O	K ₂ HPO ₄		
<i>L. plantarum</i> Pi06	35,0	-	35,0	-	40,0	10,0	3,0	5,0	0,2	0,05	-	-	-	9,0	[86]
<i>L. fermentum</i> BFE 6625	20,0	-	10,0	5,0	-	10,0	2,0	5,0	0,1	0,05	1,0	-	2,0	6,7	[92]
<i>L. plantarum</i> BFE 6713	50,0	-	20,0	1,0	10,0	-	-	-	0,3	0,30	-	0,02	-	18,2	
<i>L. pentosus</i> BFE 6748	50,0	-	20,0	1,0	10,0	-	-	-	0,3	0,30	-	0,02	-	11,2	
<i>L. rhamnosus</i> E/N	15,4	3,9	-	8,0	-	-	1,9	4,7	-	-	-	-	1,9	23,0	[101]
<i>L. rhamnosus</i> PEN	13,4	3,4	-	7,2	-	-	2,0	5,0	-	-	-	-	2,0	5,5	[85]

РОЗДІЛ 3. ТЕХНОЛОГІЯ ВИРОБНИЦТВА КОМБІНОВАНИХ БАКТЕРІАЛЬНИХ ПРЕПАРАТІВ ДЛЯ СИЛОСУВАННЯ

3.1. Підтримка активності колекційних штамів

Перш за все, технологія одержання силосних препаратів починається з підтримки активності бактеріальних культур, що входять до складу препарату.

Можна зберігати культури мікроорганізмів в побутовому холодильнику при температурі 5-8 °С, з обов'язковими пересівами періодичністю в 3 місяці. Проте для збереження життєздатності колекційних культур молочнокислих бактерій в більш тривалих інтервалах часу, рекомендується зберігати в стерильному молоці, при низьких температурах від -25 до -45 °С, що досягаються в низькотемпературних камерах. Так, наприклад, для культури *L. acidophilus* з стартовим титром - $1,1 \times 10^9$ КУО/г, протягом 3 місяців зберігання при -25 °С це дозволяє зберегти біля 44 % клітин, а зменшення температури до -40 °С - близько 50 %. Таким способом можна зберігати культури до пів року [103, 104]. Зниження температур зберігання до - 80 °С дозволяє збільшити час зберігання до 2 років з збереженням активності культур понад 80 % [105].

Іншими промисловими методами тривалого зберігання є висушування з замороженого стану (ліофілізація) [106] та зберігання в рідкому азоті [104]. Цими методами молочнокислі бактерії можуть зберігатися як в умовах холоду, так і в висушеному вигляді, з умовою швидкої реактивації декілька років з виживаємністю від 80 до 100 % [103, 107].

3.2. Умови одержання бактеріальної біомаси

Для одержання інокуляту колекційні культури відновлюють, після чого з них готують робочі культури в лабораторному середовищі (найчастіше МРС). Для комбінованих препаратів характерним є використання в складі

Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата	НУХТ БТЕК 02.01.07 КР ПЗ			
Розробив		Хоньків М.О.			РОЗДІЛ 3. ТЕХНОЛОГІЯ ВИРОБНИЦТВА КОМБІНОВАНИХ БАКТЕРІАЛЬНИХ ПРЕПАРАТІВ ДЛЯ СИЛОСУВАННЯ	Літ.	Арк.	Акрушів
Перевірив		Тетеріна С.М.					37	8
Консульт.						Кафедра БТМ		
Н. контр								
Затверд.		Пирог Т.П.						

декількох бактеріальних культур, вибір яких описаний в пунктах 1.1 та 1.2.

Особливістю одержання посівного матеріалу є або роздільне вирощування декількох бактеріальних штамів або створення стійких симбіотичних відносин з подальшим сумісним накопиченням. На практиці частіше всього використовується перший варіант, адже при такій технології мінімізується часові та матеріальні ресурси, порівняно з другим варіантом. Ці витрати пояснюються додатковими етапами по забезпеченню оптимальних умов тривалого росту бактеріального симбіозу в обмеженому просторі, і зважаючи на відмінність кислотостійкості представників різних видів молочнокислих бактерій то в обмеженому колбою та інокулятором просторі така біотехнологія силосних препаратів буде менш ефективною. Саме тому бактеріальні штами, що входять до їх складу вирощують окремо, і поєднуються лише на стадії виробничого культивування. Особливості вибору поживного середовища для вирощування і виробничого культивування, описано в розділі 2.

Стадії вирощування інокуляту мало відрізняються від виробничого одержання біомаси по вибору параметрів культивування. Для більшості варіантів монокультур молочнокислих бактерій і їх симбіозів можна використовувати стандартні параметри культивування – $t = 36-37\text{ }^{\circ}\text{C}$, $\text{pH} = 6,0-6,5$ од. Необхідна кислотність досягається титруванням з використанням 40%-ного розчину NaOH, або альтернативи у вигляді подачі концентрованого 25%-го розчину NH_3 . Проте все, таки хоч представники молочнокислих бактерій є мезофілами, то віддається перевага встановленню оптимальних умов для певних їх видів і особливо для їх симбіозів. Універсальними для видів описаних в п.1.2 є наступні діапазони параметрів – $\text{pH} 5,5 - 6,5$, температура $30-40\text{ }^{\circ}\text{C}$. Враховуючи, що представники лактобактерій, ентерококів, педіококів та пропіоновокислих бактерій є аеротолерантними анаеробами, то при вибір газової складової середовища культивування може варіюватися: заповнення середовища інертними газами, створення суміші

газів, мікроаерофільні умови, аеробні умови, проте значного впливу на приріст біомаси це не матиме [101, 108].

3.3. Зберігання біопрепарату

Для тривалого зберігання бактеріальних препаратів молочнокислих бактерій, як в п. 1.4, найкраще використовувати суху препаративну форму. Зважаючи на природу об'єкту висушування, використання навіть короткотривалої високотемпературної обробки, як наприклад, для розпилювального сушіння, спричинить втрати життєздатних клітин. Хоча багато авторів стверджують, що сушіння розпилюванням у відновленому знежиреному молоці та сироватковому пермеаті, може бути використана для цієї мети [109-112]. Для одержання біопрепаратів застосовується і сушіння з замороженого стану (ліофілізація, сублімаційна сушка). За використання цього способу вдається зберегти молочнокислі бактерії більш ніж на 30 років в життєздатному вигляді. Зокрема, життєздатність бактерій роду *Lactobacillus* після такої сушки складає близько 70-100% [113, 114]. Порівняно з ліофілізацією втрати життєздатних клітин за розпилювального способу є значно більшим.

Вживання мікробних клітин після заморожування залежить від поживного середовища [115], середовища висушування (з кріопротекторами) [116, 117], фази росту мікроорганізмів на момент заморожування [93], концентрації мікроорганізмів, та умов регідратації [115, 116]. Зокрема, найбільший вплив на життєздатність клітин в умовах ліофільного сушіння проявляють кріопротектори. Є дуже багато сполук з кріопротекторними властивостями, та середовищ на їх основі. Зокрема, в табл. 3.1 представлено деякі з них, а також їх ефект на показник збереження клітин. З усіх проаналізованих середовищ найбільшу перспективу виявляє захисне середовище на основі сухого знежиреного молока та глютамату натрію. Серед інших найбільше збереження клітин спостерігалось в захисному середовищі, яке містило знежирене молоко, сахарозу, желатин та в середовищі на знежиреному молоці з інозитом і агаром.

Кріопротектори та їх ефективність при ліофілізації

Компоненти захисних середовищ	Бактеріальна культура	Втрата життєздатних клітин після стерилізації, %	Джерело
Натрію хлорид	<i>L. acidophilus</i>	68,8	[118]
Сахароза		30,8	
Гліцерин		22,3	
Декстран		28,2	
Сухе знежирене молоко		18,5	
Знежирене молоко+екстракт солоду		19,0	
Сорбітол		23,3	
Глутамат натрію		20,2	
Сухе знежирене молоко, Цитрат натрію, Сахароза, MgSO ₄	<i>L. rhamnosus</i>	15,2	[119]
	<i>L. plantarum</i>	1,5	
	<i>L. paracasei ssp. paracasei</i>	2,6	
Сухе знежирене молоко, Фосфатний буфер, Маніт	<i>L. rhamnosus</i>	11,2	
	<i>L. plantarum</i>	9,8	
	<i>L. paracasei ssp. paracasei</i>	18,8	
Сухе знежирене молоко, Сахароза, Желатин	<i>L. rhamnosus</i>	2,1	
	<i>L. plantarum</i>	2,5	
	<i>L. paracasei ssp. paracasei</i>	4,5	
Сухе нежирене молоко, Цитрат натрію, Сахароза	<i>L. rhamnosus</i>	1,7	
	<i>L. plantarum</i>	6,1	
	<i>L. paracasei ssp. paracasei</i>	8,1	
Цитрат натрію, Сахароза, Гліцерин	<i>L. rhamnosus</i>	10	
	<i>L. plantarum</i>	7,6	
	<i>L. paracasei ssp. paracasei</i>	8,6	
Цитрат натрію, Сахароза, Агар, Желатин	<i>L. rhamnosus</i>	4,8	
	<i>L. plantarum</i>	2	
	<i>L. paracasei ssp. paracasei</i>	3,4	
Сухе знежирене молоко, Сахароза, Желатин	<i>L. rhamnosus</i>	0,3	
	<i>L. plantarum</i>	16,6	
	<i>L. paracasei ssp. paracasei</i>	1,2	
Сухе знежирене молоко, Інозит, Агар	<i>L. rhamnosus</i>	4,6	
	<i>L. plantarum</i>	0,5	
	<i>L. paracasei ssp. paracasei</i>	10,6	
Галактоза	<i>L. salivarius</i> W13	97,8	[120]
Лактоза		97,4	
Мальтоза		97,2	
Трегалоза		97,4	
Казитон		98,7	
Протеолізований пептон		98,8	
Дріжджовий екстракт		98,4	
Знежирене молоко		95,3	
Сахароза		95,1	

Сахароза+знежирене молоко	<i>L. fermentum</i> IAL 4541	88,9	[121]
Сахароза+знежирене молоко+глутамат натрію		40,5	
Знежирене молоко+глутамат натрію		0	
Знежирене молоко		4,0	
Трегалоза		6,0	
Сахароза		11,0	

Таким чином можна підсумувати, що технологія виробництва силосувальних препаратів передбачає використання стандартних режимів культивування молочнокислих бактерій, які можуть варіюватися в межах універсальних діапазонів без значних втрат в продуктивності. Особливістю є лише обов'язкове забезпечення оптимальних значень рН внаслідок постійного закислення середовища культивування внаслідок синтезу молочнокислими бактеріями органічних кислот, що може реалізовуватися або використанням лужних реактивів, або додаванням буферів.

Зберігання і колекційних культур та сухої форми реалізації препарату найкраще забезпечується засобами ліофілізації та сублимації. На виживання культур в умовах попередньої заморозки найбільший вплив має додавання кріопротекторів, серед яких найбільшу ефективність в збереженні молочнокислих бактерій мають захисні середовища, які містять сухе знежирене молоко, глутамат натрію, сахарозу, інозит, а також желатин або агар.

ВИСНОВКИ ДО ЛІТЕРАТУРНОГО ОГЛЯДУ:

1. Бактеріальний склад препаратів обирається в залежності від рослинної сировини і залежить як від кліматичних умов регіону вирощування та силосування, та безпосередньо від хімічного складу рослинної культури.

2. Профіль бродіння в силосі змінюється під час різних фаз силосування, тому в препараті мають бути додані представники декількох альтернативних груп молочнокислого бродіння. Зокрема, гомоферментативні бактерії ефективні на перших етапах, в якості стартерів, для швидкого зниження рН середовища, тоді як на подальших етапах домінуюча роль

належить гетероферментативним культурам, завдяки широкому спектру антимікробних сполук та високої стійкості до умов низької кислотності.

3. Комбіновані препарати, мають більшу ефективність забезпечені комплексних ефектів, зокрема завдяки більшості з них однаково забезпечується як зменшення втрат сухих сполук хімічного складу силосу, відсутність гниття, маслянокислого бродіння, та зігрівання силосу.

4. Ростові потреби молочнокислих бактерій вимагають складних поживних середовищ з декількома джерелами вуглецевого живлення, а також джерелами амінного азоту. Для швидкої адаптації біоскладової силосних препаратів на рослинній сировині поживне середовище яке використовується для одержання бактеріальної біомаси має бути наближеним за природою складових компонентів.

5. Високий ріст культур молочнокислих бактерій в бактеріальних композиціях вимагає використання оптимізації концентрацій складових компонентів поживних середовищ, що має найкращу реалізацію шляхом використання статистичних методів з побудовою математичних моделей поверхонь відгуку бактеріального росту.

6. Комбіновані препарати в рідкій формі можуть зберігатися без втрат активності протягом нетривалого проміжку часу, тому реалізація силосних препаратів має здійснюватися переважно в сухій формі, що досягається методами висушування бактеріальної суспензії з замороженого стану (ліофілізація, сублімація).

7. Технологія виробництва силосувальних препаратів передбачає використання стандартних режимів культивування молочнокислих бактерій, які можуть варіюватися в межах універсальних діапазонів без значних втрат в продуктивності. Особливістю є лише обов'язкове забезпечення оптимальних значень рН внаслідок постійного закислення середовища культивування внаслідок синтезу молочнокислими бактеріями органічних кислот, що може реалізовуватися або використанням лужних реактивів, або додаванням буферів.

8. На виживання культур в умовах попередньої заморозки найбільший вплив має додавання кріопротекторів, серед яких найбільшу ефективність в збереженні молочнокислих бактерій мають захисні середовища, які містять сухе знежирене молоко, глутамат натрію, сахарозу, інозит, а також желатин або агар.

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА

РОЗДІЛ 4. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

4.1. План проведення дослідження

1. Здійснити силосування кукурудзи з та без додавання препарату на основі біомаси раніше виділеного штаму *Lactobacillus buchneri* 3806 та вивчити вплив на якість одержаного силосу.
2. Провести пошук або додатковий скринінг необхідних біологічних агентів для покращення ефективності препарату на основі *L. buchneri* 3806.
3. Розробити варіанти складу бактеріальних композицій.
4. Провести аналіз параметрів росту створених варіантів композицій та згідно одержаних результатів визначити найактивнішу бактеріальну композицію.
5. Дослідити вплив додавання препарату на основі обраної бактеріальної композиції на якість готового кукурудзяного силосу.
6. Підібрати оптимальний склад та концентрацію компонентів в поживному середовищі для одержання бактеріальної композиції.
7. Визначити оптимальні значення технологічних параметрів для сумісного культивування обраних бактеріальних штамів.
8. Знайти ефективне захисне середовище для одержання сухої форми препарату під час ліофілізації біомаси.

4.2. Приготування поживних середовищ

В дослідженні використовувалися поживні середовища склад яких описаний в табл. 4.1- 4.4.

					НУХТ БТЕК 02.01.07 КР ПЗ			
<i>Змн.</i>	<i>Арк.</i>	<i>№ докум.</i>	<i>Підпис</i>	<i>Дата</i>				
<i>Розробив</i>		<i>Хоньків М.О.</i>			РОЗДІЛ 4. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ	<i>Літ.</i>	<i>Арк.</i>	<i>Акрушів</i>
<i>Перевірив</i>		<i>Тетеріна С.М.</i>					44	23
<i>Консульт.</i>		<i>Даниленко С.Г.</i>				Кафедра БТМ		
<i>Н. контр.</i>								
<i>Затверд.</i>		<i>Пирог Т.П.</i>						

Склад середовища «Гідролізований бульйон» (гідролізоване молоко)

№	Найменування компонентів	Витрата на 1 дм ³ середовища
1	Сухе знежирене молоко	100 г
2	Дистильована вода	900 см ³
3	Протосубтилін	2,9 г
4	Хлороформ	8 см ³

Методика приготування:

Наважку сухого знежиреного молока розчиняли в дистильованій воді. Нагрівали до кипіння і витримували 2-3 хв. Охолоджували до кімнатної температури (19±1) °С. Готували розчин протосубтиліну і додавали до молока. Через 3-5 хв. також додавали хлороформ і витримували 2,5 години в термостаті для гідролізу. Після чого фільтрували гідролізат через паперовий фільтр. Фільтрат розводили водою у співвідношенні 1:1, та встановлювали рН на рівні від 6,8 до 7,0. Стерилізували за температури (121±1)°С протягом 20 хв. в автоклаві.

Для приготування щільного варіанту середовища змішували гідролізований бульйон і дистильовану воду у співвідношенні 1:1. Додавали розплавлений агар в концентрації 1,5 % і розливали у посуд. Стерилізували за температури (121±1)°С протягом 20 хв. в автоклаві.

Склад середовища «МРС»

№	Найменування компонентів	Витрата на 1 дм ³ середовища
1	Глюкоза	20 г
2	Казеїновий пептон	10 г
3	М'ясний екстракт	10 г
4	Дріжджовий автолізат	5 г
5	Марганець сірчаноокислий 5-водний	0,05 г
6	Магній сірчаноокислий 7-водний	0,2 г
7	Натрій оцтовокислий	5 г
8	Амоній лимоннокислий	2 г
9	Гідроортофосфат калію	2 г
10	Твін – 80	1 см ³

Методика приготування:

Компоненти змішували та доводили дистильованою водою до необхідного об'єму. Встановлювали рН на рівні 6,4-6,8 25% розчином аміачної води. Розливали в пробірки по 10 мл або в колби необхідного

об'єму. Стерилізували за температури $(121 \pm 1) ^\circ\text{C}$ протягом 20 хв. в автоклаві. При необхідності щільного середовища, до складу МРС - бульйону додавали агар мікробіологічний в кількості 1,5%.

Таблиця 4.3

Компоненти для приготування фізіологічного розчину

№	Найменування компонентів	Витрата на 1 дм ³ середовища
1	Натрій хлорид	8,5 г
2	Дистильована вода	до 1000 см ³

Методика приготування:

Наважку хлористого натрію розчиняли в 1000 см³ дистильованої води. Встановлювали значення рН на рівні $7,0 \pm 0,1$ од.

Стерилізували за температури $(121 \pm 1) ^\circ\text{C}$ протягом 20 хв.

Таблиця 4.4

Склад щільного елективного середовища для *Enterococcus faecium*

№	Найменування компонентів	Витрата на 1 дм ³ середовища
1	Дріжджовий автолізат	25 см ³
2	NaHPO ₄	1 г
3	KH ₂ PO ₄	1 г
4	MgSO ₄	1г
5	Пептон	5 г
6	Маніт	1 см ³
7	Бромкрезоловий пурпурний (індикатор)	1 см ³

Методика приготування:

В мірний стакан переносили наважки солей та пептону, необхідний об'єм дріжджового автолізату та доводили до 1 л дистильованою водою. Встановлювали рН на рівні 7,2-7,6. Розчиняли 12-15 г агару. Розливали по 100 мл в колби на 250 мл. Стерилізували 10-15 хв. за $(121 \pm 1) ^\circ\text{C}$. Перед використанням середовище розплавляли, додавали по 1 см³ індикатору – бромкрезолового пурпурного та маніту. Кінцевий колір середовища – рожево-фіолетовий.

4.3. Бактеріальні культури

В якості об'єктів дослідження використовували 2 штами *Lactobacillus buchneri* 3806 та *L. plantarum* 3216 ізольовані з силосу кукурудзи, 2 штами *Enterococcus faecium* С-8-12, *E. faecium* С-6-6 ізольовані з фекалій кролика (див. п. 4.4., 4.5, 5.4.), та 3 музейні штами *L. acidophilus* 7074, *L. casei* 3300,

L. brevis 3432, що зберігаються в відділі біотехнології Інституту продовольчих ресурсів НААН України. Культури молочнокислих бактерій підтримували на середовищі МРС, між пересівами зберігали за температури $(4\pm 2)^\circ\text{C}$.

Опис морфолого-культуральних та біохімічних властивостей штамів:

Lactobacillus acidophilus 7074: Короткі товсті палички, поодинокі, іноді утворюють в короткі ланцюжки (рис 1.3, А). Найкращий ріст спостерігається на щільних середовищах МРС (з агаром) та ГА, на них колонії мають форму маленьких та великих човників білого кольору, а також овальні та круглі колонії з гладкою поверхнею. За типом метаболізму облігатно-гомоферментативні молочнокислі бактерії.

Lactobacillus casei 3300: Короткі товсті палички, що утворюють короткі та довгі ланцюжки (рис 1.3, Б). Найкращий ріст спостерігається на щільних середовищах МРС (з агаром) та ГА, на них колонії мають форму маленьких та великих човників білого кольору, а також овальні та круглі колонії з гладкою поверхнею. За типом метаболізму облігатно-гомоферментативні молочнокислі бактерії.

Lactobacillus plantarum 3216: Палички, що мають розміри $0,6\times 1,5-2,0$ мкм, можуть бути поодинокими, або збиратися в скупчення та іноді ланцюжки (рис 1.3, В). Найкращий ріст спостерігається на щільних середовищах МРС (з агаром) та ГА, на них колонії мають форму округлих колоній, непрозорих, білого кольору, з гладкою блискучою поверхнею і розмірами від 0,6 до 1,5 см. Штам виділений з кукурудзяного силосу в попередніх дослідженнях. За типом метаболізму факультативно-гетероферментативна молочнокислі бактерії.

Lactobacillus brevis 3432: Палички, що мають розміри $0,6\times 1,5-2,0$ мкм, можуть бути поодинокими, або збиратися в скупчення та іноді ланцюжки (рис. 1.3, Г). Найкращий ріст спостерігається на щільних середовищах МРС (з агаром) та ГА, на них колонії мають форму округлих колоній, непрозорих,

білого кольору, з гладкою блискучою поверхнею і розмірами від 0,6 до 1,5 см. За типом метаболізму облігатно-гетероферментативна молочнокисла бактерія.

Lactobacillus buchneri 3806: Палички, що мають розміри 0,6×1,5-2,0 мкм, можуть бути поодинокими, або збиратися в скупчення та іноді ланцюжки (рис. 1.3, Д). Найкращий ріст спостерігається на щільних середовищах МРС (з агаром) та ГА, на них колонії мають форму округлих колоній, непрозорих, білого кольору, з гладкою блискучою поверхнею і розмірами від 0,6 до 1,5 см. За типом метаболізму облігатно-гетероферментативна молочнокисла бактерія. Штам виділений з кукурудзяного силосу в попередніх дослідженнях.

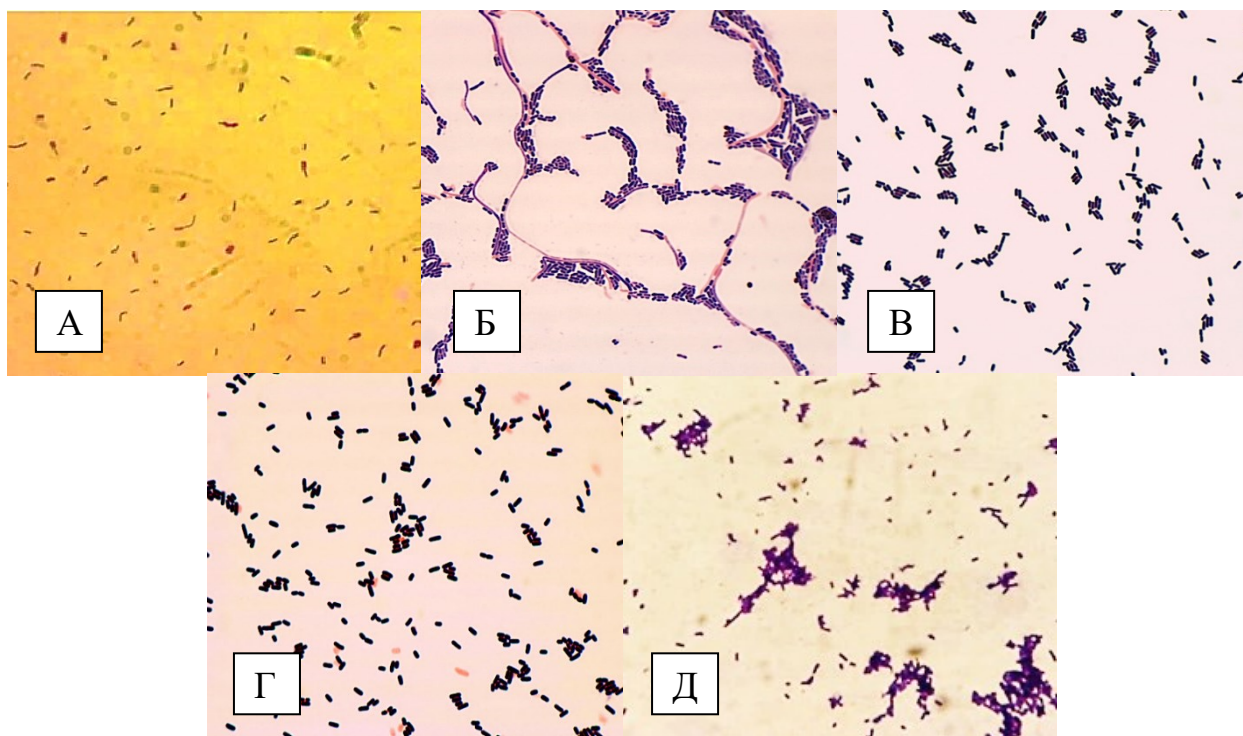


Рис. 4.1. Фотографії культур: А - *L. acidophilus* 7074, Б – *L. casei* 3300, В – *L. plantarum* 3216, Г – *L. brevis* 3432, Д – *L. buchneri* 3806.

4.4. Одержання чистих культур ентерококів з фекалій кролів

Дві фекальні кульки масою близько 20 г, гомогенізували у фарфоровій ступці з стерильним піском і розчиняли в 180 см³ стерильного фізіологічного розчину. Отримували перше розведення. Суспензію залишали на 15 хвилин, після чого профільтровували через паперовий фільтр. Далі з першого розведення готували подальші десятикратні розведення. Для цього

застосовували стерильні піпетки місткістю 1 см³. Перед відбором ретельно перемішували вміст пробірки піпеткою. Переносили 1 см³ першого розведення у пробірку з 9 см³ стерильного фізіологічного розчину не занурюючи піпетку у розчинник. Повторювали методику розведення відбираючи 1 см³ кожного наступного розведення в пробірку з 9 см³ стерильного фізіологічного розчину поки не досягали потрібного розведення. Глибинним способом висівали розведення в чашки Петрі з щільним елективним середовищем для ентерококів та в пробірки з ГМ. Через 48 годин витримання культур в термостаті за температури - 37°C з кожної чашки Петрі, де спостерігався ріст мікроорганізмів, мікробіологічною петлею відбирали ізольовані колонії навколо яких колір середовища з рожево-фіолетового змінився на жовтий (рис.4.2) і засівали їх в пробірки з рідким МРС.

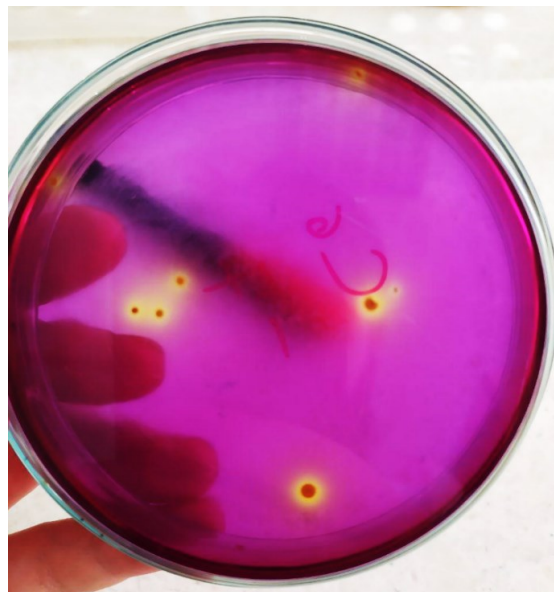


Рис. 4.2. Зміна кольору елективного середовища навколо колоній ентерококів

Мікроорганізми в пробірках з ГМ, при наявності ознак росту (осаду або помутніння середовища) перевивали в нове середовище. Після вирощування для всіх зразків методом світлової мікроскопії було проведено контроль чистоти культур, попередньо пофарбованих бактеріальних препаратів барвником генціанвіолетовим, та відібрано деякі з них для подальшої ідентифікації за морфологічними ознаками клітин.

При наявності в мікропрепаратах сторонніх мікроорганізмів або значної морфологічної гетерогенності культури процес виділення чистої культури повторювали шляхом глибинного посіву в чашки Петрі з агаризованим середовищем МРС.

Ріст або відсутність росту визначали візуально (після струшування пробірки) за наявністю або відсутністю помутніння чи осаду. Посіви мікроскопіювали і відбирали зразки культур бактерій за їх морфологічними властивостями.

Колонії виділених культур засівали та підтримували в МРС і ГМ.

4.5. Методи аналізу, скринінгу та ідентифікації бактеріальних культур

Мікроскопіювання

Готували мазки, та фарбували їх за допомогою папірців з генціанвіолетом.

На висушені та пофарбовані мазки наносили 1-2 краплі імерсійної олії на мазок та здійснювали аналіз за допомогою мікроскопу Motic (Fischer Bioblock) з вмонтованою відеокамерою TopView 1000 зі збільшенням в 1000 разів.

Порівняння активності культур

Відбір культур за активністю здійснювали засівом відібраних зразків в пробірки з рідким МРС та культивуванням в термостаті за 37°C протягом 8 год. Після 8-годинного культивування з пробірок відбирали по 1 мл культуральної рідини і робили ряд 10-кратних розведень в пробірках з 9 см³ фізіологічного розчину. З 5 по 7 розведення глибинно засівали чашки Петрі з агаризованим середовищем МРС.

Тести по зброджуванню вуглеводів.

Видову ідентифікацію проводили шляхом культивування бактеріальних культур в середовищі за Скородумовою [122] з рядом різних вуглеводів (табл. 4.5).

Склад середовища за Скородумовою

№	Найменування компонентів	Витрата на 1 дм ³ середовища
1	Дріжджовий автолізат	25 см ³
2	NaHPO ₄	1 г
3	KH ₂ PO ₄	1 г
4	MgSO ₄	1г
5	Пептон	5 г
6	Бромтимоловий синій (індикатор)	1 см ³

Методика приготування середовища та визначення рівня збродження вуглеводів:

Після розчинення компонентів в дистильованій воді середовище стерилізували та доводили значення рН в межах 6,8-7,0. Після чого середовище розливали по 5 мл в пробірки. Кінцевий колір середовища – зелений (рис. 4.3 (а)). В кожену пробірку додавали по 0,5 см³ 10%-го розчину вуглеводу і 0,1 см³ досліджуваної культури штаму. Вимірювали рН і потім ставили в термостат на 48 годин при 37°С. Потім візуально за зміною кольору середовища з зеленого на жовтий (рис. 4.3 (б)), що вказує на зниження рН культуральної рідини середовища визначали збродження того чи іншого вуглеводу. Використовувані вуглеводи: D-арабіноза, дульцитол, целобіоза, інозитол, сорбіт, фруктоза, галактоза, глюкоза, мальтоза, манноза, манніт, мелібіоза, меліцитоза, рамноза, рибоза, трегалоза, ксилоза.

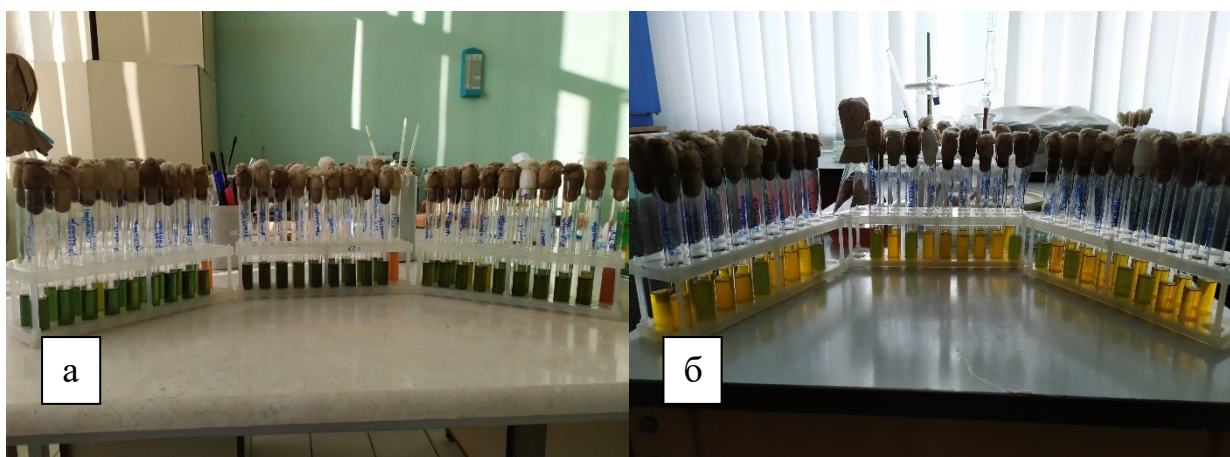


Рис. 4.3. Початок тесту – (а), в кінці тесту на збродження вуглеводів – (б).

4.6. Реактивація ліофілізованих культур молочнокислих бактерій

Задля проведення дослідження властивостей виділених бактерій, порівняльні культури молочнокислих бактерій було реактивовано з ліофілізованого стану.

Дотримуючись умов асептики флакон із ліофілізованою бактеріальною культурою відкривали, і її вміст розчиняли в $3,0 \pm 0,5$ см³ фізіологічного розчину за температури $37,0 \pm 1,0$ °С. Цією кількістю культури інокулювали 20 см³ рідкого поживного середовища МРС. Культивування культури проводили протягом 30 ± 6 год. за температури $37,0 \pm 1,0$ °С.

Одержану первинну культуру контролювали на присутність сторонніх мікроорганізмів висівом на МПА та використовували для приготування вторинної культури.

Посівна доза для приготування вторинної культури складала $8 \pm 2\%$. Посіви інкубували за температури $37,0 \pm 1$ °С протягом 21 ± 3 годин. Вторинну культуру також контролювали на сторонню мікрофлору та використовували для приготування інокуляту лактобактерій у кількості $5,0 \pm 1\%$.

4.7. Силосування кукурудзи в лабораторних умовах

Силосування в умовах лабораторії проводили наступним чином: подрібнену кукурудзу закладали в скляні банки, ретельно утрамбовували і герметично закривали. Доза внесення препаратів становила – 100 см³ на 1 т зеленої маси. Кінцева концентрація мікроорганізмів в рослинній сировині становила $5,2-6,3 \cdot 10^5$ КУО/см³. Тривалість витримки – 4 тижні.

4.8. Аналіз готового силосу

4.8.1. Активна кислотність

Проведення визначення [123]:

У підготовлені по водні екстракти силосу поміщали скляний електрод і сольовий контакт електрода порівняння рН-метру. Після остаточного встановлення потенціалу знімали показання з шкали приладу. Показання приладу зчитували з похибкою до 0,05 од рН.

Електроди при перенесенні з однієї проби в іншу обмивали дистильованою водою і сушили фільтрувальним папером.

Обробка результатів

За остаточний результат випробування приймали середнє арифметичне результатів двох паралельних визначень, допустимі розбіжності між якими не перевищували 0,15 од рН.

4.8.2. Визначення вмісту сухих речовин

Список реактивів: Хлористий кальцій, концентрована і розбавлена водою дистильованою (1:1) соляна кислота, вода дистильована.

Проведення визначення [124]:

Алюмінієві бюкси відповідних розмірів висушували при температурі $(105 \pm 2)^\circ \text{C}$ протягом 1 год., охолоджували в ексікаторі і зважували.

У зважений бюкс поміщали випробувану пробу силосу масою 5-70 г. Бюкс з випробуваною прободою поміщали в сушильну шафу. Кришку знімали і ставили поруч. Сушіння проводили при температурі $(105 \pm 2)^\circ \text{C}$ протягом 6 годин. Після сушіння бюкс закривали кришкою, охолоджували в ексікаторі до кімнатної температури. Зважування порожнього бюкса, навішування проби, а також бюкса з висушеною наважкою проводили з точністю $\pm 0,01$ г.

Проби повторно підсушували протягом 1 год. і після охолодження знову зважували. Маса вважали постійною, якщо різниця між першим і другим зважуваннями висушеної і охолодженої проби не перевищувала 0,5% маси висушеної проби.

Обробка результатів

Масову частку сухої речовини, %, в випробуваній пробі обчислювали за формулою 4.1:

$$y = \frac{m_3 - m_1}{m_2 - m_1} \cdot 100, \quad (4.1)$$

де m_1 - маса бюкса, г;

m_3 - маса бюкса з прободою до висушування, г;

m_2 - маса бюкса з прободою після висушування, г;

100 - коефіцієнт перерахунку в відсотки.

За остаточний результат визначення приймали середньоарифметичне значення двох паралельних визначень масової частки сухої речовини.

Числове значення результату визначення повинно закінчуватися цифрою того ж розряду, що і значення межі абсолютної похибки.

До середньоарифметичного значення вмісту сухої речовини в силосованих і зелених кормах вносили поправки на втрати летких речовин в процесі сушіння.

Вміст сухої речовини в кукурудзі розраховували за формулою 4.2:

$$СВ_к = 0,96СВ + 2,22, \quad (4.2)$$

де, $СВ_к$ - значення вмісту сухої речовини, скоригованого з урахуванням втрат летючих речовин, %;

$СВ$ - значення вмісту сухої речовини, встановленого за допомогою аналізу, %;

4.8.3. Визначення вмісту розчинних вуглеводів

Список реактивів: цинк сірчаноокислий 7-водний, цинк оцтовоокислий 2-водний, антрон, глюкоза безводна, калій залізистосинеродистий 3-водний, вода дистильована.

Проведення визначення [125]:

Отримання екстракту розчинних вуглеводів

Вибірку силосу масою не менше 100 г висушували в сушильній шафі при температурі 60-65°C. Висушену пробу подрібнюють в ступці.

Наважку подрібненої в ступці випробовуваної проби масою близько 0,5 г, зважену з точністю до 0,001 г, поміщали в колби місткістю 150 см³ і заливали 60 см³ дистильованої води, нагрітої до температури 60° С. Після чого колби перемішували на мішалці з частотою струшування 200 коливань в хвилину протягом 15-20 хв. Розчин фільтрували через скляну воронку з паперовим фільтром в мірну колбу місткістю 100 см³. Осад переносили на фільтр і промивали невеликою кількістю дистильованої води. Після охолодження розчин доводили до мітки дистильованою водою і ретельно перемішували.

Отримували вихідний неосвітлений екстракт розчинних вуглеводів. Екстракт зберігали в холодильнику не більше доби.

Освітлення розчинів

Для освітлення розчину в мірну колбу місткістю 100 см³ відбирали 5-10 см³ з екстракту. Доливали дистильовану воду до заповнення близько 2/3 об'єму колби. Потім в цю ж колбу додавали по 2 см³ розчинів сірчаноокислого або оцтовоокислого цинку і розчину залізістосинеродистого калію (жовтої кров'яної солі). Розчини з випавшим аморфним осадом доводили до мітки дистильованою водою, ретельно перемішували і залишали на 20 хв. при періодичному перемішуванні. Розчин фільтрували через паперовий фільтр в суху конічну колбу місткістю 100 см³, відкидаючи перші порції фільтрату. При аналізі проби, що містить невелику кількість вуглеводів, освітлення проводили безпосередньо після екстракції, додаючи освітлюючі розчини в колбу з вихідним розчином. Обсяг доводили до мітки дистильованою водою і ретельно перемішують. Освітлений розчин зберігали в холодильнику не більше доби.

Фарбування розчинів і вимір їх оптичної густини

Фарбування освітленого розчину екстракту та розчинів порівняння проводили в термостійких пробірках з притертими пробками.

У пробірки піпеткою вливали 10 см³ антронового реактиву. Потім в одну серію пробірок вносили по 2 см³ освітлених розчину екстракту, в другу - розчинів порівняння глюкози. Пробірки закривали притертими пробками і вміст ретельно струшували. Розчини повинні бути прозорими. Якщо розчин каламутний, то замість 10 см³ антронового реактиву використовували 15 см³, повторюючи фарбування. Потім пробірки відкривали і поміщають в киплячу водяну баню, встановлюючи штатив із пробірками так, щоб його дно не стосувалося дна бані. При нагріванні стежили, щоб в пробірки не потрапила вода. При нагріванні з'являється блакитно-зелене або зелене забарвлення. Через 20 хв. пробірки виймали з бані, охолоджували у водопровідній воді і через 30 хв. вимірювали оптичну щільність розчинів щодо нульового розчину

порівняння при довжині хвилі 625 нм (червоний світлофільтр), використовуючи кювети з товщиною поглинаючого світло шару 10 або 20 мм.

Приготування основного розчину глюкози

Розчиняли в дистильованій воді, попередньо прокип'яченій і охолодженій до 20 °С, 0,3 г глюкози в мірній колбі місткістю 1000 см³. Розчин доводили до мітки дистильованою водою і перемішували. У розчин додавали кілька крапель толуолу.

Приготування розчинів порівняння глюкози

У мірні колби місткістю 100 см³ наливали основний розчин глюкози в обсягах, зазначених в табл. 4.6, доводили обсяг розчинів дистильованою водою до мітки і ретельно перемішували.

Таблиця 4.6.

Об'єм основного розчину глюкози, см ³	Маса глюкози в 2 см ³ розчинів порівняння, мг
0	0
5	0,03
10	0,06
15	0,09
20	0,12
25	0,15

Вміст вуглеводів в досліджуваній пробі визначали по калібрувальному графіку, побудованим за результатами вимірювання оптичної щільності розчинів порівняння глюкози. Для побудови калібрувального графіка по осі абсцис відкладали масу глюкози в міліграмах, що міститься в 2 см³ розчинів порівняння, на осі ординат - відповідну їй оптичну щільність. Вимірювання проводили в діапазоні оптичної щільності 0,15-0,60. Якщо вихідні розчини, приготовлені без розведення, при вимірі мали дуже низьку оптичну щільність, аналіз повторювали, збільшуючи наважку проби або обсяг розчинів екстракту. Якщо отримували високу оптичну щільність, досліджувані розчини перед фарбуванням розбавляли нульовим розчином.

Обробка результатів

Масову частку розчинних вуглеводів в випробуваній пробі у відсотках (%) обчислювали за формулою 4.3:

$$X = \frac{m \cdot V \cdot V_1 \cdot 100}{m_1 \cdot V_2 \cdot 2}, \quad (4.3)$$

де m - маса цукру, що міститься в 2 см³ екстракту, визначена за градувальним графіком, мг;

V - обсяг вихідного неосвітленого екстракту, см;

V_1 - обсяг освітленого екстракту, см³ (100 см³);

V_2 - обсяг вихідного екстракту, взятого для освітлення, см³;

2 - обсяг освітленого екстракту, взятого для фарбування, см³;

m_1 - маса наважки, мг;

100 - коефіцієнт перерахунку в %.

За остаточний результат випробування приймали середнє арифметичне результатів двох паралельних визначень.

Результати обчислювали до другого десяткового знаку і округлювали до першого десяткового знаку.

Допустимі розбіжності між результатами двох паралельних визначень (d_{abc}) і між двома результатами, отриманими в різних умовах (D_{abc}) при довірчій ймовірності $P = 0,95$ не повинні перевищувати значень розрахованих по формулам 4.4 та 4.5:

$$d_{abc} = 0,30 + 0,05\bar{X} \quad , \quad (4.4)$$

$$D_{abc} = 0,75 + 0,14\bar{\bar{X}} \quad , \quad (4.5)$$

де \bar{X} - середнє арифметичне результатів двох паралельних визначень, %;

$\bar{\bar{X}}$ - середнє арифметичне результатів двох визначень, виконаних в різних умовах, %.

Граничну похибку результату аналізу (Δ_{Σ}) при односторонній довірчій ймовірності $P = 0,95$ обчислювали за формулою 4.6:

$$\Delta_{\Sigma} = 0.44 + 0.08\bar{X} \quad (4.6)$$

Масову частку розчинних вуглеводів у відсотках на суху речовину обчислювали за формулою 4.7:

$$X_2 = \frac{X \cdot (X_1) \cdot 100}{100 - B} \quad (4.7)$$

де X - масова частка розчинних вуглеводів в випробуваній пробі, %;

B - масова частка вологи в випробуваній пробі, %.

4.8.4. Визначення масової частки органічних кислот

Список реактивів: Оксид кальцію (10 %-й водний розчин), Мідь сірчанооксида 5-водна (10 %-й водний розчин), калій двохромовоокислий, сірчана кислота, гідроксид натрію (0,1 моль/дм³), фенолфталеїн, вода дистильована.

Проведення визначення [126]:

Аналізовану пробу подрібненого корму масою 100 г при його натуральній вологості поміщали в колбу місткістю 1000 см³ і доводили до мітки дистильованою водою. Колбу закривали пробкою і струшували, після чого ставили в прохолодне місце для настоювання на 10-12 год. (зазвичай на ніч), а після закінчення цього часу витяжку фільтрували через вату в широкогорлій воронці.

Для осадження цукрів 200 см³ отриманого фільтрату поміщали в мірну колбу місткістю 250 см³, додають 20 см³ суспензії оксиду кальцію і 10 см³ розчину сірчанооксида міді, струшували і залишали на 1 год. Потім доводили об'єм розчину до мітки дистильованою водою, перемішували і фільтрували через сухий складчастий фільтр.

200 см³ отриманого обезцукреного фільтрату поміщали в круглу плоскодонну колбу місткістю 500 см³, додавали для вивільнення кислот в 5 см³ розчину сірчаної кислоти масовою часткою 50% і чотири-п'ять шматочків пемзи, збовтували, з'єднували з прямим холодильником і нагрівали.

Далі провили відгін 100 см³ протягом 20-30 хв. з моменту закипання (дистилят 1), а потім, не перериваючи відгону, в іншу мірну колбу відганяють ще 50 см³ протягом 10-15 хв. (дистилят 2). Як приймач

використовують мірні колби місткістю 50 і 100 см³ з притертими пробками; колби після відгону відразу закривали.

До залишку рідини в відгінній колбі після відгону дистилятів 1 і 2 додавали 55 см³ розчину біхромату калію для окислення молочної кислоти в оцтову і 100 см³ води. Рідину в колбі нагрівали до кипіння і відганяли 50 см³ дистиляту протягом 10-15 хв. (дистилят 3).

Дистиляти переносили з мірних колб в конічні, ополіскуючи їх 10-15 см³ води і зливали її також в конічні колби. Дистиляти титрували 0,05 моль/дм³ розчином гідроксиду натрію в присутності фенолфталеїну до слабо-рожевого забарвлення, яке не зникало протягом 1 хв. Обсяг витраченого на титрування розчину гідроксиду натрію множили на 1,25, так як при обезцукрюванні 200 см фільтрату доводили реактивами і водою до 250 см, а для дистиляції беруть 200 см³.

Обробка результатів:

Масову частку органічних кислот [оцтової X, масляної X₁ і молочної кислот X₂] в пробі,%, обчислювали за формулами 4.8-4.10:

$$X = 0,96V_2 - 0,021V_1, \quad (4.8)$$

$$X_1 = 0,43V_1 - 0,68V_2, \quad (4.9)$$

$$X_2 = 0,123V_3 - 0,046V_2 + 0,006V_1, \quad (4.10)$$

де, V₁, V₂, V₃ – обсяг розчину 0,05 моль/дм³ гідроксиду натрію витраченого на титрування дистилятів 1, 2 і 3, відповідно, см³.

За остаточний результат випробування приймають середньоарифметичне результатів двох паралельних визначень.

Допустимі відхилення між результатами двох паралельних визначень не повинні перевищувати 0,03%.

4.8.5. Метод визначення сирого протеїну.

Суть методу полягає в розкладанні проби органічної речовини концентрованої сірчаної кислотою з утворенням солей амонію і подальшому

фотометричному визначенні азоту у вигляді пофарбованого індофенольного з'єднання, що утворюється в лужному середовищі при взаємодії з саліцилатом і гіпохлоритом натрію і має максимум світлопоглинання при 655 нм. Концентрація азоту в фотоколориметрованих розчинах повинна бути 0,01-0,14 мг /³см.

Список реактивів: Хлорид амонію, натрію гідроксид (2 моль/дм³), саліцилат натрію, нітропрусидний натрій, калій виннокислий, трилон Б, сірчана кислота, хлорне вапно, селен, перекис водню, карбонат натрію безводний, соляна кислота, йодид калію, тіосульфат натрію, вода дистильована.

Приготування розчину № 1:

57 г саліцилату натрію, 17 г калію виннокислого і 27 г гідроксиду натрію розчиняли в 700 см³ дистильованої води. Розчин кип'ятили близько 20 хв. для видалення залишків аміаку. Після охолодження до одержаного розчину додавали 0,4 г нітропрусидного натрію та доводили об'єм до 1 дм³ дистильованою водою.

Приготування розчину № 2:

До 50 см³ розчину № 1 доливали 400 см³ дистильованої води і 10 см³ розчину гідроксиду натрію = 2 моль/дм³, після чого додавали 1 г трилону Б.

Приготування розчину № 3:

150 г хлорного вапна перемішували в склянці на 500 см³. В іншій склянці 105 г карбонату натрію розчиняли в 250 см³ дистильованої води. Обидва розчини зливають разом при постійному перемішуванні. Маса спочатку густіла, після чого розріджувалася. Суспензію залишали на 1-2 доби для відстоювання, після чого прозору рідину зливали і декантували через паперовий фільтр.

В розчині № 3 знаходили концентрацію активного хлору. Для цього 1 см³ прозорого фільтрату розчину № 3 розбавляли в конічній колбі на 100 см³ дистильованою водою до 40-50 см³, додавали 2 г йодистого калію і 10 см³ 1 моль/дм³ розчину соляної кислоти. Утворений йод відтитровували

розчином тіосульфату натрію 0,1 моль/дм³ до зникнення вишневого забарвлення

Концентрацію активного хлору, (с) г/дм³, знаходили по формулі 4.11:

$$c = 0,00355 \cdot V \cdot 1000, \quad (4.11)$$

де V – об'єм розчину тіосульфату натрію 0,1 моль/дм³, що пішов на титрування 1 см³ розчину № 3, см³.

0,00355 - маса хлору, яка відповідає 1 см³ тіосульфату натрію 0,1 моль/дм³, г.

1000 – коефіцієнт перерахунку.

Приготування розчину № 4:

Розчин № 3 розбавляли дистильованою водою до концентрації активного хлору 1,2 г/дм³ і використовували для аналізу впродовж одного дня.

Об'єм розчину № 3, необхідний для приготування певного об'єму розчину 4 вираховували по формулі 4.12:

$$V = \frac{1,2 \cdot V_1}{c}, \quad (4.12)$$

де 1,2 – необхідна концентрація хлору, г/дм³;

V – об'єм розчину № 3, необхідний для приготування V₁ см³ розчину № 4, см³;

V₁ – одержуваний об'єм розчину № 4, см³;

c - концентрація активного хлору, г/дм³.

Підготовка проб до випробування [127]:

Середню пробу силосу подрібнювали на відрізки довжиною 1-3 см. Методом квартування виділяли частину середньої проби, маса якої після висушування повинна бути не менше 50 г. Висушування проб проводили в сушильній шафі при температурі 60-65 ° С до повітряно сухого стану.

Проведення визначення [127]:

Приготування мінералізату

У довгій сухій пробірці, яка вільно входить в горло термостійкої колби або, зважували 0,2-0,3 г досліджуваної проби корму. Вставивши пробірку з

пробою в колбу до її дна, висипали наважку і знову зважували пробірку. По різниці між першим і другим зважуванням визначали масу навішування, взятої для аналізу. До навішування додають 2 см³ 30%-ного розчину перекису водню. Через 1,5-2 хв. додавали 3 см³ концентрованої сірчаної кислоти, що містить селен, і злегка струшували. Пробірки або колби поступово нагрівали до 340-380 ° С. Мінералізацію проб продовжують до повного знебарвлення розчину. Якщо через 1,5-2 год. не відбувається знебарвлення, розчин охолоджували до 60-80°C, доливають 1 см³ перекису водню і кип'ятили до повного знебарвлення.

Після знебарвлення розчин охолоджували, кількісно переносили в мірну колбу, доводили дистильованою водою до 100 см³ і перемішували. Допускається проводити мінералізацію в каліброваних пробірках.

Фотометричне визначення азоту в мінералізаті

Для визначення азоту в конічну колбу місткістю 100 см³ піпеткою відбирали 0,5 см³ мінералізату, доливали до нього 50 см³ розчину 2 і перемішували, потім додавали піпеткою або шприцом-дозатором 2,5 см³ розчину 4, знову перемішували і залишали розчин на 1 год. при кімнатній температурі для повного розвитку забарвлення.

Оптичну щільність розчинів вимірювали щодо розчину порівняння, що не містить азот, в кюветах з товщиною просвічує шару 10 мм, використовуючи червоний світлофільтр з максимумом пропускання 620-670 нм.

Якщо показання приладу для випробуваного розчину перевищувало показання восьмого розчину порівняння, то вихідний розчин мінералізату розбавляли першим розчином порівняння до оптимальної для фотометрії концентрації (оптична густина 0,2-0,8).

Одночасно проводили контрольний дослід на забруднення води і реактивів аміаком, без взяття наважки силосу.

Обробка результатів:

Масову частку азоту (X) у відсотках в досліджуваній пробі обчислювали за формулою 4.13:

$$X = \frac{(m - m_1) \cdot 100}{m_2}, \quad (4.13)$$

де, m - вміст азоту в наважці (в 100 см^3 розчину), знайдений за калібрувальним графіком, мг;

m_1 - вміст азоту в 100 см^3 розчину контрольного досвіду, знайдений за калібрувальним графіком, мг;

m_2 - маса наважки, мг.

Якщо вихідний розчин мінералізату перед аналізом був розбавлений, отриманий результат збільшували у стільки разів, у скільки був розбавлений вихідний розчин.

За остаточний результат випробування приймали середнє арифметичне результатів двох паралельних визначень. Результати обчислювали до третього десяткового знаку і округлювали до другого десяткового знаку.

Граничну похибку результату аналізу (Δ_{Σ}) при односторонній довірчій ймовірності $P = 0,95$ обчислюють за формулою 4.14:

$$\Delta_{\Sigma} = 0.046 + 0.039\bar{X}, \quad (4.14)$$

Масову частку азоту в сухій речовині (X_1) у відсотках обчислювали за формулою 4.15:

$$X_1 = \frac{X \cdot 100}{100 - W}, \quad (4.15)$$

де, X - масова частка азоту в випробуваній пробі, %;

W - масова частка води в випробуваній пробі, %.

Масову частку сирого протеїну в випробуваній пробі (X_2) або в сухій речовині (X_3) у відсотках обчислювали за формулою 4.16:

$$X_2(X_3) = 6,25X(X_1), \quad (4.16)$$

де, 6,25 - коефіцієнт перерахунку загального вмісту азоту на сирий протеїн;

X - масова частка азоту в випробуваній пробі,%;

X₁ - масова частка азоту в сухій речовині,%

4.8.6. Метод визначення аеробної стабільності силосу

Аеробну стабільність силосу визначали за часом, який проходить від моменту відкриття силосу (контакту з киснем) до підвищення температури силосу на 2 °С.

4.9. Вирощування культур та культивування їх композицій

Всі культури вирощували попередньо у пробірках з МРС протягом 14 год. в термостаті при 37°С. Після чого по 3-4,5 см³ відповідної культури в залежності від композиції в умовах асептики вносили у колбу об'ємом 250 см³ з 150 см³ середовища МРС, загальний об'єм внесеної дози – 9 см³ (6% від об'єму середовища). Так само вносили і всі інші складові культури. Після внесення вміст колб перемішували, відбирали зразок для встановлення початкового титру висіваючи його розведення в чашки Петрі з щільним МРС та після витримці протягом 48 годин в термостаті при 37°С рахували колонії і перераховували на кількість клітин. Після відбору зразку колби закривали ватно-марлевою пробкою та ставили на 14-годинне культивування в термостат при 37°С. Кожні 2 години відбирають зразок культуральної рідини з подальшим висівом на щільне МРС з встановленням титру клітин у культуральній рідині.

4.10. Оптимізація поживного середовища

В якості основи середовища використовували гідролізоване молоко з додаванням солей: калій фосфорнокислий однозаміщений – 2 г/л; марганець сірчаноокислий 5-водний – 0,05 г/л; магній сірчаноокислий 7-водний – 0,2 г/л, твін-80 – 1,0 мл/л.

В експериментальні середовища вносили глюкозу, сухий концентрат кукурудзяного екстракту у кількості 10-20 г/л, казеїновий пептон – 5-10 г/л,

сухий концентрат дріжджового екстракту (ДЕ) – 3-7 г/л, ацетат натрію (АН) – 2-4 г/л та цитрат натрію (ЦН) – 3-7 г/л. Контроль – середовище МРС.

В якості посівного матеріалу використовували добові культури, що входять до складу новоствореної бактеріальної композиції з титром не менше $1,0 \cdot 10^8$ КУО/см³, які вносили в кількості 6 % від об'єму середовища за їх співвідношення 1:1:1. Вихідне значення оптичної густини бактеріальної суспензії складало 0.1 од. (за 590 нм).

Для постановки дослідження з пошуку оптимального середовища, було використано методологію математичного планування експерименту (МПЕ). Для скорочення кількості дослідів для 6 факторів було використано ротатабельний центрально-композиційний план (РЦКП). Критерієм оптимальності було обрано оптичну густину культуральної рідини, що характеризує приріст біомаси. Після ряду вимірювань оптичної густини до внесення інокуляту, внаслідок додавання забарвлених складових середовища в різних концентраціях (кукурудзяний та дріжджовий екстракти) вносилися поправки до значення в кінці культивування. Культивування мікроорганізмів вели у періодичному режимі зі стабілізацією рН культуральної рідини в діапазоні 6.0-6.5 од. впродовж 14 год. за температури (36 ± 1) °С. Рівень накопичення біомаси за оптичною густиною визначали спектрофотометричним методом на спектрофотометрі Unico S 2100+ (за довжини хвилі – 590 нм).

4.11. Оптимізація технологічних параметрів культивування бактеріальної композиції

Дослідження впливу технологічних параметрів на ростові властивості молочнокислих бактерій здійснювали за аналогічною методикою РЦКП.

Культивування здійснювали на середовищі попередньо оптимізованого складу. Визначення температурного оптимуму проводили в межах 33-38 °С, підтримуючи необхідну температуру в термостаті під час всього культивування. Тоді як, для визначення оптимального рН, було обрано діапазон значень – 6,0-7,0 од. Визначення активної кислотності в

культуральній рідині проводили – потенціометрично. Значення кислотності підтримували на одному рівні додаванням 25%-го водного розчину аміаку.

4.12. Математичне планування та статистична обробка результатів

Планування експерименту та обробка даних здійснювалася за допомогою програмного середовища для статистичного аналізу STATISTICA 12. В ході обробки результатів вираховувалися коефіцієнти рівняння полінома регресії і їх дисперсії. Перевірка адекватності одержаного відгуку здійснювалася по критерію Фішера. Значення експериментальних даних, а також коефіцієнтів регресії вважалися статистично значимими, якщо $p \leq 0.05$.

4.13. Вибір захисного середовища для ліофілізації

Використовувалися 4 варіанти захисних середовищ. ЗС 1: сухе знежирене молоко – 10 г, цитрат натрію – 0,2 г, сахароза - 1,0 г, сульфат магнію – 0,05 г, дистильована вода – до 100 см³. ЗС 2: сухе знежирене молоко – 3 г, сахароза – 15 г, желатин – 5 г, дистильована вода – до 100 см³. ЗС 3: цитрат натрію – 5 г, сахароза – 25 г, агар – 0,1 г, дистильована вода – до 100 см³. ЗС 4: сухе знежирене молоко – 14 г, інозит – 10 г, агар – 0,1 г, дистильована вода – до 100 см³. Контроль – дистильована вода. Для оцінки ефективності захисного середовища визначали ступінь виживання бактерій за співвідношенням чисельності клітин до та після ліофілізації в 1 см³ бактеріальної суспензії. Для цього, бактеріальну композицію культивували упродовж 14 годин за температури 37 °С, після чого змішували з захисним середовищем в співвідношенні 1:1, отриману суспензію розливали у флакони по 2 см³. Після цього поміщали в сушильну камеру. Проводили процес в сублімаційній сушарці ТГ15 за наступного технологічного режиму: початкова температура мінус (40±1) °С, кінцева – плюс (30±2) °С, залишковий тиск - не більше 6,65 Па (0,679 кгс/м²). Тривалість сушіння – 30-34 год. Після висушування, порошок бактеріальної біомаси з залишками компонентів середовищ відновлювали водою до вихідного об'єму.

РОЗДІЛ 5. РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

5.1. Силосування кукурудзи з обробкою *L. buchneri* 3806

Для створення бактеріальної композиції, було вирішено знайти та виділити потенційні складові для бактеріального препарату. В попередніх дослідженнях було встановлено, що штам *L. buchneri* 3806, що був виділений з кукурудзяного силосу є перспективною складовою нових біопрепаратів за рахунок гетероферментативного метаболізму. Саме тому, в даному дослідженні цей штам був основою комбінацій бактеріальних композицій.

Перш за все, для вибору додаткових штамів було необхідним дослідити властивості препарату на основі лише штаму *L. buchneri* 3806, шляхом обробки силосу кукурудзи. Для цього щільно закладену кукурудзу ретельно утрамбовували в скляній банці. Далі одну частину зразків обробляли суспензією *L. buchneri* 3806 (дослід) а іншу залишали без обробки (контроль) після чого банки герметично закривали і залишали до кінця дослідження. Через 28 днів банки відкривали та знаходили значення хімічні показники силосу: вміст сухих речовин, вуглеводів, органічних кислот, сирого протеїну, та активної кислотності. Результати наведені в табл. 5.1

Таблиця 5.1

Вплив обробки *L. buchneri* 3806 на хімічні показники силосу

№	Препарат	Тривалість процесу, днів	Вміст СР в силосі, %		Сирий протеїн, % СР		Водорозчинні вуглеводи % СР		рН	Співвідношення кислот, % від загальної кількості		
			В сировині	В готовому силосі	В сировині	В готовому силосі	В сировині	В готовому силосі		Молочна к-та, %	Оцтова к-та, %	Масляна к-та, %
1	К	28	35,72	33,31 ±0.09	9,6 ±0.18	8,5 ±0.03	35.41 ±0.11	21.48 ±0.03	4.52 ±0.1	62.73	36.99	0.53
	Д		±0.12	33,92 ±0.06		9,16 ±0.07		31,87 ±0.18				

Примітка. К - контроль, Д - *L. buchneri* 3806.

					НУХТ БТЕК 02.01.07 КР ПЗ			
Змн.	Арк.	№ докум.	Підпис	Дата				
Розробив		Хоньків М.О.			РОЗДІЛ 5. РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ	Літ.	Арк.	Акрушів
Перевірив		Тетеріна С.М.					67	19
Консульт.		Даниленко С.Г.				Кафедра БТМ		
Н. контр.								
Затверд.		Пирог Т.П.						

Штами *L. buchneri* показали краще збереження сухих речовин, та сирого протеїну в силосі, разом з водорозчинними вуглеводами. Значення активної кислотності для *L. buchneri* дещо вищі за контроль, що пояснюється вищим вмістом оцтової кислоти. Для дослідного силосу порівняно з контролем характерна повна відсутність масляної кислоти, що свідчить про гарні консерваційні властивості обробки. Загалом препарат проявив гарний ефект на показники силосу, проте для того, щоб бути дійсно ефективним, йому не вистачає швидкості в накопиченні молочної кислоти, внаслідок чого в силосі створюється хоч і достатні, проте не найкращі показники кислотності.

Для компенсації цих негативних проявів, на основі аналізу літератури, в якості інших бактеріальних культур були обрані *L. acidophilus* 7074, *L. casei* 3300, *L. brevis* 3432, а також штам *L. plantarum* 3796, який був виділений з кукурудзяного силосу разом з *L. buchneri* 3806. В якості перспективних культур, які було заплановано додатково виділити для створення композиції, було обрано *Enterococcus faecium*.

5.2. Виділення, відбір та ідентифікація ентерококів

В якості джерела вилучення ізолятів ентерококів було використано фекалії кролів. Відповідні зразки були відібрані і в подальшому гомогенізовані з одержанням дослідної суспензії в фізіологічному розчині.

Для одержання ізолятів з бажаними властивостями було проведено висів розведень дослідної суспензії на чашки Петрі з елективним середовищем, а також на ГА попередньо накопичених в ГМ. З щільних середовищ було відібрано 8 ізолятів, морфолого-культуральний опис яких наведено в табл. 5.2, після чого ними засівали пробірки з МРС та ГМ.

Після перегляду культурально-морфологічних ознак ізолятів для подальших досліджень було обрано зразки А, С, G, Н. Так як деякі з обраних зразків були гетерогенними, для розділення та одержання чистих культур всі культури глибинно висівали на чашки Петрі зі щільним МРС та ставили в термостат на 48 годин за температури 37°C.

Морфолого-культуральні ознаки одержаних ізолятів

Позначення ізоляту	Середовище з якого одержувалися ізоляти	Культуральні ознаки	Морфологічні ознаки
A	Елективне середовище для <i>Enterococcus faecium</i>	Колонії жовтого кольору, непрозорі, круглої форми та у формі човників. Розміри колоній 1-3 мм в діаметр, або в довжину.	Дрібні кокові клітини, зібрані в ланцюжки по 4-5 клітин.
B	Елективне середовище для <i>Enterococcus faecium</i>	Колонії жовтого кольору, непрозорі, круглої форми та у формі човників. Розміри колоній 1-3 мм в діаметр, або в довжину.	Дрібні кокові клітини, є поодинокі клітини, зібрані в різної довжини ланцюжки.
C	Елективне середовище для <i>Enterococcus faecium</i>	Колонії жовтого кольору, непрозорі, круглої форми та у формі човників. Розміри колоній 1-3 мм в діаметр, або в довжину.	Скупчення диплококів та ланцюжків від 5 до 15 клітин.
D	Елективне середовище для <i>Enterococcus faecium</i>	Колонії жовтого кольору, непрозорі, круглої форми та у формі човників. Розміри колоній 1-3 мм в діаметр, або в довжину.	Скупчення диплококів та ланцюжків від 5 до 15 клітин
E	ГА	Колонії білого кольору, непрозорі, без блиску, круглої форми та у формі човників. Розміри колоній 1-3 мм в діаметр, або в довжину.	Дрібні поодинокі коки, та короткі палички
F	ГА	Колонії білого кольору, непрозорі, без блиску, круглої форми та у формі човників. Розміри колоній 1-3 мм в діаметр, або в довжину.	Дрібні поодинокі коки, та короткі палички
G	ГА	Колонії білого кольору, непрозорі, без блиску, круглої форми та у формі човників. Розміри колоній 1-3 мм в діаметр, або в довжину.	Дрібні коки в скупченнях, та довгі тонкі палички
H	ГА	Колонії білого кольору, непрозорі, без блиску, круглої форми та у формі човників. Розміри колоній 1-3 мм в діаметр, або в довжину.	Коки середніх розмірів, поодинокі, диплококи та в скупченнях

При аналізі посівів було виявлено відсутність росту висіяних розведень зразку H.

З одержаних ізолятів після висіву зразку А було відібрано 5 колоній та засіяно пробірки з МРС для С – 10 колоній, та G – 9 колоній. Всі зразки характеризувалися наступними ознаками росту в пробірках – помутніння середовища, та осад на дні пробірки. Далі проводили мікроскопіювання з метою перевірки чистоти культури та встановлення морфологічних ознак – табл. 5.3.

Таблиця 5.3

Морфологічні ознаки культур після розділення

Культура	Морфологічні ознаки
A-1	Скупчення коків
A-2	Скупчення коків
A-3	Скупчення коків
A-4	Скупчення коків
A-5	Скупчення коків
C-1	Скупчення коків
C-2	Скупчення коків
C-3	Ланцюжки коків
C-4	Скупчення коків
C-5	Скупчення коків
C-6	Характерні ланцюжки по 5-15 клітин
C-7	Скупчення коків
C-8	Одинокі коки
C-9	Характерні ланцюжки по 5-15 клітин
C-10	Скупчення коків
G-1	Палички
G-2	Палички
G-3	Палички
G-4	Палички
G-5	Палички
G-6	Палички
G-7	Палички
G-8	Палички
G-9	Палички

Після аналізу морфологічних ознак було відібрано культури C-3, 6, 8, 9 через характерні для ентерококів морфологічні особливості.

Для повторного підтвердження належності цих культур до роду ентерококів їх розсівали на елективне середовище для ентерококів.

В результаті було відібрано 12 штамів ентерококів та проаналізовано їх кінцеву морфологію (табл. 5.4).

Морфологія штамів ентерококів

Штами	Морфологічні ознаки
C-3-1	Поодинокі коки, скупчення
C-3-2	Поодинокі коки, скупчення
C-8-3	Поодинокі коки, скупчення
C-9-4	Поодинокі коки, диплококи, ланцюжки
C-9-5	Поодинокі коки, скупчення
C-6-6	Поодинокі коки, диплококи, ланцюжки
C-6-7	Поодинокі коки, скупчення
C-6-8	Поодинокі коки, скупчення
C-6-9	Поодинокі коки, скупчення
C-6-10	Поодинокі коки, скупчення
C-8-11	Поодинокі коки, скупчення
C-8-12	Поодинокі коки, диплококи, ланцюжки

Після вивчення морфології для наступного етапу було відібрано штамми C-9-4, C-6-6 та C-8-12. Перед подальшою ідентифікацією штамми відбирали по активності росту, для цього їх культивували протягом 8 годин в МРС та висівали їх розведення на агаризоване МРС для підрахунку кількості колоній, яка накопилася за цей час. Результати наведені на рис. 5.1.

На основі активності росту було відібрані штамми C-6-6 та C-8-12 для подальшої видової ідентифікації.

Видову ідентифікацію штамів ентерококів проводили за спектром зброджування ряду вуглеводів в індикаторному середовищі Скородумової (табл.5.5).



Рис. 5.1. Кількість клітин через 8 годин культивування

Спектр збродження вуглеводів штамами С-6-6 та С-8-12

Вуглеводи	Збродження штамом С-6-6	Збродження штамом С-8-12
D-арабіноза	-	-
дульцитол	-	-
целобіоза	+	+
інозитол	+	+
сорбіт	+	+
фруктоза	+	+
галактоза	+	+
глюкоза	+	+
мальтоза	+	+
манноза	+	+
манніт	+	+
мелібіоза	-	-
меліцитоза	+	+
рамноза	+	+
рибоза	+	+
трегалоза	+	+
ксилоза	+	+

Згідно з визначником Бергі штами С-6-6 та С-8-12 належать до виду *Enterococcus faecium*.

Мікропрепарати штамів С-6-6 та С-8-12 наведені на рис 5.2.

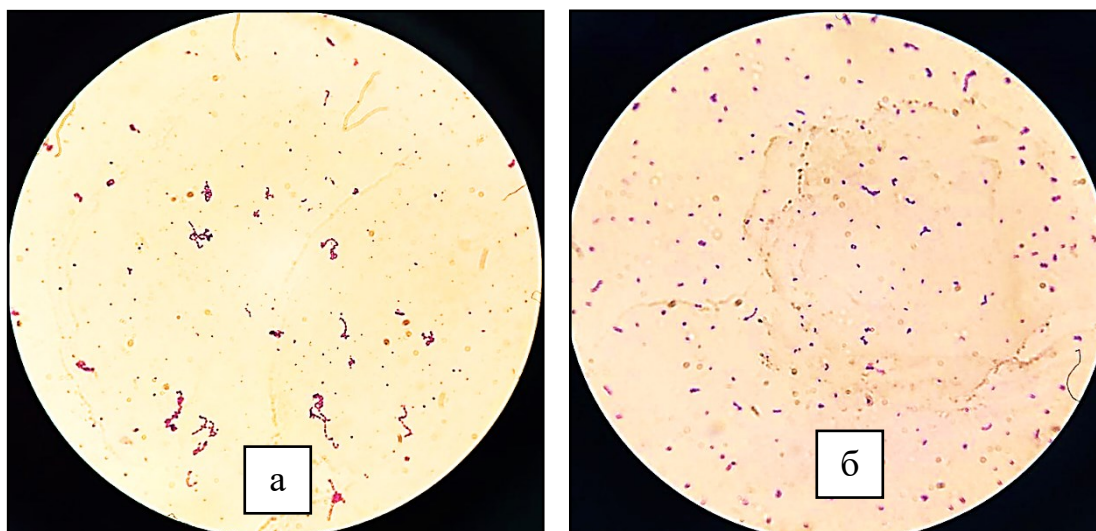


Рис. 5.2. Мікропрепарати штамів С-6-6 (а) та С-8-12 (б) пофарбованих генціанвіолетом, при збільшенні $\times 1000$.

Одержані штами використовувалися на наступному етапі дослідження в складі бактеріальних композицій.

5.3. Вибір бактеріального складу для комбінованого препарату

Із перспективних штамів, на основі наших попередніх досліджень, було скомбіновано 9 дво- та трьохштамових композицій, які поєднували враховуючи різні типи метаболізму молочнокислих бактерій, а саме:

- облігатно гомо і гетероферментативний: *L. buchneri* 3806 + *L. acidophilus* 7074/ *L. casei* 3300/ *E. faecium* C-8-12/ *E. faecium* C-6-6;
- 2 види облігатно гетероферментативних: *L. buchneri* 3806 + *L. brevis* 3432;
- облігатно і факультативно гетероферментативний: *L. buchneri* 3806 + *L. plantarum* 3216;
- облігатно і факультативно гетероферментативний і облігатно гомоферментативний: *L. buchneri* 3806 + *L. plantarum* 3216 + *L. acidophilus* 7074/ *L. casei* 3300/ *E. faecium* C-8-12/ *E. faecium* C-6-6.

Варіанти комбінацій бактеріального складу наведені в табл. 5.6.

Таблиця 5.6

Варіанти бактеріальних композицій

Номер штаму	Композиція 1	Композиція 2	Композиція 3	Композиція 4	Композиція 5	Композиція 6	Композиція 7	Композиція 8	Композиція 9
3806	+	+	+	+	+	+	+	+	+
7074	+						+		
3300		+							
3432			+						
3216				+			+	+	+
C-6-6					+			+	
C-8-12						+			+

Для більш детальної оцінки, нами було пораховано константу швидкості поділу клітин для значень концентрації клітин в часовому діапазоні з 4 до 12 годин. Одержані значення наведені в табл. 5.7. видно, що згідно константам швидкості поділу, варіант 9 має найбільшу швидкість росту популяції. Наближені результати мають варіанти 8 та 4, а найгірші результати належать варіанту 3.

**Значення оптичної густини, рН та співвідношення штамів після 14 годин
культивування**

Варіант композиції	Константа швидкості поділу ν , год ⁻¹	Оптична густина D	рН	Співвідношення штамів*
1	0,394	0,80	4,45	1 (<i>L.buc.</i> 3806) : 1,5 (<i>L.a.</i> 7074)
2	0,312	0,73	4,49	1 (<i>L.buc.</i> 3806) : 1,5 (<i>L.c.</i> 3300)
3	0,209	0,68	4,61	1 (<i>L.buc.</i> 3806) : 1 (<i>L.br.</i> 3432)
4	0,500	0,84	4,47	1 (<i>L.buc.</i> 3806) : 1,75 (<i>L.p.</i> 3216)
5	0,387	0,77	4,41	1 (<i>L.buc.</i> 3806) : 2,3 (<i>E.f.</i> C-6-6)
6	0,471	0,79	4,40	1 (<i>L.buc.</i> 3806) : 1,3 (<i>E.f.</i> C-8-12)
7	0,547	0,85	4,38	1 (<i>L.buc.</i> 3806) : 2,5 (<i>L.p.</i> 3216) : 1,5 (<i>L.a.</i> 7074)
8	0,538	1,06	4,35	1 (<i>L.buc.</i> 3806) : 2 (<i>L.p.</i> 3216) : 1 (<i>E.f.</i> C-6-6)
9	0,558	1,08	4,33	1 (<i>L.buc.</i> 3806) : 1,5 (<i>L.p.</i> 3216) : 1,4 (<i>E.f.</i> C-8-12)

Примітка: **L.buc.* 3806 – *L. buchneri* 3806, *L.p.* 3216 - *L. plantarum* 3216, *E.f.* C-8-12 - *Enterococcus faecium* C-8-12, *E.f.* C-6-6 - *E. faecium* C-6-6, *L.a.* 7074 - *L. acidophilus* 7074, *L.c.* 3300 - *L. casei* 3300, *L.br.* 3432 - *L. brevis* 3432.

Окрім швидкості росту, для порівняння бактеріальних композицій також визначалися оптична густина та рН і співвідношення штамів в культуральній рідині після 14 годин культивування (табл. 5.7.).

Результати з визначення оптичної густини закономірно корелюються з результатами по швидкості росту популяції бактерій в композиціях. Так, композиція 9 відповідно характеризується найкращою сумісністю культур, найвищим рівнем накопичення біомаси, високою швидкістю нарощення популяції активних клітин та зниженням кислотності середовища без різкого пригнічення ростових властивостей культур.

Базуючись на цих результатах композиція 9 на основі штамів *L. buchneri* 3806, *E. faecium* C-8-12 та *L. plantarum* 3216 була обрана для подальших досліджень.

5.4. Вплив новоствореної бактеріальної композиції на якість силосу з кукурудзи

Композиція на основі штамів *L. buchneri* 3806, *E. faecium* C-8-12, *L. plantarum* 3216, як було сказано вище, представлена трьома альтернативними типами молочнокислого бродіння, що в даному складі

дозволяє використовувати різні типи бродіння за високої сумісності представлених штамів. Прогнозовано в силосі ця композиція здатна ефективно накопичувати свою біомасу. Окрім того, використання трьох типів молочнокислого бродіння дозволяє накопичувати широкий спектр антимікробних метаболітів, як з фунгіцидною так і бактерицидною активністю.

Перевірку ефективності новоствореної бактеріальної композиції було проведено у досліді з силосування в лабораторних умовах з використанням новоствореної композиції (*L. buchneri* 3806, *E. faecium* C-8-12, *L. plantarum* 3216) (Д1), монокультури *L. buchneri* 3806 (Д2) та контролі – без додавання(К).

В табл. 5.8. представлено показники якості силосу з кукурудзи, отриманого за одночасної закладки із застосуванням та без застосування заквасок.

Аналізуючи дані представленні в таблиці 5.8. можна відзначити, що порівняно з контролем та Д2 у разі застосування бактеріальної композиції Д1 спостерігається більш різке зниження рН середовища, що в свою чергу відмічено не тільки за показником активної кислотності, а й за загальним вмістом органічних кислот. У досліді з препаратом Д2 значно нижчі ростові і кислотоутворюючі властивості у порівнянні з Д1. Аеробна стійкість силосу обробленого препаратом Д1 підтримується протягом близько двох тижнів (341 год.), що є достатнім для попередження нагрівання та псування силосу внаслідок розвитку аеробних мікроорганізмів, тоді як для Д2 даний показник на 28 годин менший.

Присутність двох гомоферментативних штамів *E. faecium* C-8-12 та *L. plantarum* 3216 було ефективним з точки зору вирішення проблеми високого рН силосу, адже при досягнених значеннях активної кислотності $4,22 \pm 0,03$ активність сторонньої мікробіоти значно знизилася, внаслідок чого суттєво підвищився рівень збереження сухих речовин, в тому числі сухого протеїну та водорозчинних вуглеводів.

**Вплив обробки бактеріальною композицією та монокультурою на
хімічні показники кукурудзяного силосу**

№	Препарат*	Тривалість процесу, діб	Вміст СР, %		Сирий протеїн, % СР		Водорозчинні вуглеводи % СР		рН в силосі	Вміст кислот від загальної кількості, % від 100 %			Аеробна стабільність, год.				
			В сировині	В готовому силосі	В сировині	В готовому силосі	В сировині	В готовому силосі		Молочна к-та	Оцтова к-та	Масляна к-та					
1	К	28	32,13 ±0,17	27,89 ±0,21	10,2 ±0,26	7,5 ±0,06	16,98 ±0,12	4,72 ±0,21	68,23	27,76	4,01	57					
2	Д2			28,06 ±0,11		9,22 ±0,11		29,87 ±0,08					4,56 ±0,04	56,72	43,28	0,00	313
3	Д1			30,1 ±0,08		9,03 ±0,10		23,90 ±0,05					4,22 ±0,03				

*Примітка: К -контрольний силос без додавання препарату. Препарати: Д2-на основі монокультури *L. buchneri* 3806; Д1- на основі бактеріальної композиції (*L. buchneri* 3806, *E. faecium* С-8-12, *L. plantarum* 3216).

Відсутність сторонньої мікробіоти підтверджувалася відсутністю масляної кислоти, етанолу та аміаку. Органолептичні показники силосу корелювали з результатами хімічного аналізу. Так, запах силосу Д1 був приємного фруктового відтінку, колір рівномірний, це було характерним й для Д2, тоді як для контролю характерним був різкий неприємний запах. Колір для всіх зразків був однорідний жовто-коричневий.

Таким чином, наведені результати доводять ефективність препарату на основі підібраної бактеріальної композиції в процесі силосування кукурудзи. Окрім кукурудзи цей препарат може бути випробуваний і на іншій сировині, де є висока ймовірність забруднення сировини дріжджами, грибами та гнильною мікробіотою, наприклад деякі багаторічні бобові трави (люцерна, конюшина).

5.5. Оптимізація поживного середовища

В якості факторів оптимізації було обрано 6 компонентів, за зміни яких могло би забезпечуватися збільшення рівня накопичення біомаси бактерій.

Як джерело вуглецю, було обрано глюкозу, що входить до складу середовища МРС, і є основним вуглеводом клітинного соку кукурудзи. В якості головного джерела азотного живлення, замість м'ясного екстракту, використовували концентрований кукурудзяний екстракт. Діапазон концентрацій для глюкози і кукурудзяного екстракту, були обрані на рівні 10-20 г/л. Для забезпечення всіх потреб метаболізму молочнокислих бактерій серед інших джерел азотного живлення та ростових факторів середовище доповнювали казеїновим пептоном в діапазоні концентрацій – 5-10 г/л, та дріжджовим екстрактом – 3-7 г/л. Окрім того, були використано ацетат та цитрат натрію в діапазонах концентрацій 2-4 г/л та 3-7 г/л відповідно. Відомо, що ацетати є інгібіторами для багатьох сторонніх мікроорганізмів, тоді як цитрати [128], є резервним джерелом енергії для молочнокислих бактерій. Ріст біомаси клітин оцінювали за оптичною густиною (D) культуральної рідини. Для одержання інформації про відгук оптичної густини в залежності від концентрації складових поживного середовища було обрано трьохрівневий центральний композиційний план експериментів. Для 6 факторів необхідно було одержати результати в 46 дослідах, варіанти комбінування яких наведені в табл. 5.9.

Таблиця 5.9

Матриця експериментальних даних для поверхні відгуку

№	Значення змінних факторів						Відгук Y**
	X ₁ *	X ₂ *	X ₃ *	X ₄ *	X ₅ *	X ₆ *	
1	10,00	3,00	10,00	5,00	3,00	2,00	1,09
2	10,00	3,00	10,00	5,00	7,00	4,00	1,12
3	10,00	3,00	10,00	10,00	3,00	4,00	1,19
4	10,00	3,00	10,00	10,00	7,00	2,00	1,21
5	10,00	3,00	20,00	5,00	3,00	4,00	1,54
6	10,00	3,00	20,00	5,00	7,00	2,00	1,58
7	10,00	3,00	20,00	10,00	3,00	2,00	1,60
8	10,00	3,00	20,00	10,00	7,00	4,00	1,62
9	10,00	7,00	10,00	5,00	3,00	4,00	1,28
10	10,00	7,00	10,00	5,00	7,00	2,00	1,30
11	10,00	7,00	10,00	10,00	3,00	2,00	1,32
12	10,00	7,00	10,00	10,00	7,00	4,00	1,36
13	10,00	7,00	20,00	5,00	3,00	2,00	1,66
14	10,00	7,00	20,00	5,00	7,00	4,00	1,69
15	10,00	7,00	20,00	10,00	3,00	4,00	1,70

16	10,00	7,00	20,00	10,00	7,00	2,00	1,73
17	20,00	3,00	10,00	5,00	3,00	4,00	1,45
18	20,00	3,00	10,00	5,00	7,00	2,00	1,47
19	20,00	3,00	10,00	10,00	3,00	2,00	1,49
20	20,00	3,00	10,00	10,00	7,00	4,00	1,52
21	20,00	3,00	20,00	5,00	3,00	2,00	1,78
22	20,00	3,00	20,00	5,00	7,00	4,00	1,84
23	20,00	3,00	20,00	10,00	3,00	4,00	1,82
24	20,00	3,00	20,00	10,00	7,00	2,00	1,88
25	20,00	7,00	10,00	5,00	3,00	2,00	1,59
26	20,00	7,00	10,00	5,00	7,00	4,00	1,61
27	20,00	7,00	10,00	10,00	3,00	4,00	1,64
28	20,00	7,00	10,00	10,00	7,00	2,00	1,67
29	20,00	7,00	20,00	5,00	3,00	4,00	1,91
30	20,00	7,00	20,00	5,00	7,00	2,00	1,93
31	20,00	7,00	20,00	10,00	3,00	2,00	1,92
32	20,00	7,00	20,00	10,00	7,00	4,00	1,92
33	3,11	5,00	15,00	7,50	5,00	3,00	0,95
34	26,89	5,00	15,00	7,50	5,00	3,00	1,80
35	15,00	0,24	15,00	7,50	5,00	3,00	1,69
36	15,00	9,76	15,00	7,50	5,00	3,00	1,75
37	15,00	5,00	3,11	7,50	5,00	3,00	1,11
38	15,00	5,00	26,89	7,50	5,00	3,00	1,94
39	15,00	5,00	15,00	1,55	5,00	3,00	1,52
40	15,00	5,00	15,00	13,45	5,00	3,00	1,82
41	15,00	5,00	15,00	7,50	0,24	3,00	1,59
42	15,00	5,00	15,00	7,50	9,76	3,00	1,87
43	15,00	5,00	15,00	7,50	5,00	0,62	1,60
44	15,00	5,00	15,00	7,50	5,00	5,38	1,86
45	15,00	5,00	15,00	7,50	5,00	3,00	1,78
46	15,00	5,00	15,00	7,50	5,00	3,00	1,79

Примітка: * – фактори: X_1 -концентрація глюкози, X_2 -концентрація дріжджового екстракту, X_3 - концентрація кукурудзяного екстракту, X_4 - концентрація казеїнового пептону, X_5 - концентрація цитрату натрію, X_6 - концентрація ацетату натрію. Зазначені значення концентрації компонентів вимірюються в грамах на літр середовища (г/л). ** – відгук: Y – значення оптичної густини D , од.

Згідно одержаним експериментальним значенням оптичної густини одержаних при культивуванні бактеріальної композиції, в якості математичної моделі було обрано поліномом регресії другого порядку (5.1):

$$Y = \beta_0 + \sum_{i=1}^6 \beta_i X_i + \sum_{j=1}^6 \beta_{jj} X_j^2 \quad (5.1)$$

Перевірку адекватності впливу кожного фактору здійснювали з використанням дисперсійного аналізу. Значення критеріїв оцінки дисперсії одержаних результатів по кожному фактору наведені в табл. 5.10. Згідно цих

даних, всі досліджені компоненти в їх діапазонах концентрацій, є статистично значимими для впливу на оптичну густину, адже виконується умова $p \leq 0,05$.

Коефіцієнт детермінації визначений для даної моделі, значення якого становить $R^2 = 0.96$ свідчить про досить близьке наближення відгуку критерію оптимальності його реальним значенням. Саме тому запропоноване рівняння регресії є придатним для застосування в подальшій оптимізації.

Таблиця 5.10

Показники дисперсійного аналізу

№	Компонент	Критерії дисперсії					
		SS*	df*	MS*	F*	p*	
1	Глюкоза	Л**	0,966952	1	0,966952	19339,04	0,004578
		К**	0,224623	1	0,224623	4492,45	0,009497
2	Дріжджовий екстракт	Л**	0,108987	1	0,108987	2179,75	0,013634
		К**	0,011667	1	0,011667	233,34	0,041616
3	Кукурудзяний екстракт	Л**	1,398910	1	1,398910	27978,19	0,003806
		К**	0,099127	1	0,099127	1982,54	0,014295
4	Казеїновий пептон	Л**	0,049451	1	0,049451	989,02	0,020236
		К**	0,025936	1	0,025936	518,73	0,027934
5	Цитрат натрію	Л**	0,029792	1	0,029792	595,84	0,026066
		К**	0,009488	1	0,009488	189,77	0,046133
6	Ацетат натрію	Л**	0,008545	1	0,008545	170,91	0,048602
		К**	0,009488	1	0,009488	189,77	0,046133
Відсутність придатності		0,129847	32	0,004058	81,15	0,087695	
Чиста помилка		0,000050	1	0,000050			
Загальна сума квадратів (SS)		2,985783	45				

Примітка: * – показники дисперсії: SS – сума квадратів; df – ступені свободи; MS – середня сума квадратів; F – критерій Фішера; p – статистична значимість. ** – тип залежності: Л – лінійна, К – квадратична.

Коефіцієнти регресії одержані для побудови поверхонь відгуку критерію оптимальності (D) наведені в табл. 5.11. Аналіз показує відповідність коефіцієнтів для заданої довірчої ймовірності $P = 95\%$. Отже, загальне рівняння регресії з обрахованими коефіцієнтами має наступний вигляд (5.2):

$$\begin{aligned}
 Y = & -1,31229 + 0,12467 \cdot X_1 + 0,7009 \cdot X_2 + 0,09891 \cdot X_3 + 0,07793 \cdot X_4 + \\
 & + 0,05370 \cdot X_5 + 0,11145 \cdot X_6 - 0,00316 \cdot X_1^2 - 0,00450 \cdot X_2^2 - 0,00210 \cdot X_3^2 - \\
 & - 0,0042 \cdot X_4^2 - 0,00406 \cdot X_5^2 - 0,01623 \cdot X_6^2
 \end{aligned}
 \quad (5.2)$$

Коефіцієнти регресії та їх статистична значимість

Фактор	Компонент		Коефіцієнти регресії (β_i)	Чиста помилка	Критерій Стьюдента (t)	p
	Вільний коефіцієнт	β_0	-1,31229	0,037679	-34,8278	0,018274
X ₁	Глюкоза	Л	0,12467	0,001430	87,1557	0,007304
		К	-0,00316	0,000047	-67,0258	0,009497
X ₂	Дріжджовий екстракт	Л	0,07009	0,002995	23,4026	0,027186
		К	-0,00450	0,000295	-15,2756	0,041616
X ₃	Кукурудзяний екстракт	Л	0,09891	0,001430	69,1475	0,009206
		К	-0,00210	0,000047	-44,5257	0,014295
X ₄	Казеїновий пептон	Л	0,07793	0,002861	27,2414	0,023359
		К	-0,00429	0,000189	-22,7756	0,027934
X ₅	Цитрат натрію	Л	0,05370	0,002995	17,9307	0,035468
		К	-0,00406	0,000295	-13,7756	0,046133
X ₆	Ацетат натрію	Л	0,11145	0,007152	15,5831	0,040797
		К	-0,01623	0,001179	-13,7756	0,046133

Поверхні відгуку представляють собою тривимірну модель, тому для шести факторів було побудовано одразу 15 поверхонь відгуку, для яких приймали 2 змінних фактори при значенні константи для 4 інших. Проекції поверхонь відгуку оптичної густини наведено в **Додатках А та Б**. Для встановлення значень концентрації аналізованих компонентів за яких оптична густина буде мати максимальне значення було знайдено екстремум функції відгуку в точці максимуму. Для вирішення цієї задачі розрахунки здійснено за допомогою програми STATISTICA 12 на основі побудованих поверхонь відгуку, результати яких наведено в табл. 5.12. За розрахованих оптимальних концентрацій компонентів поживного середовища теоретична оптична густина досягає значення 2,08 од. Для перевірки теоретично одержаних результатів було проведено культивування бактеріальної композиції протягом 14 год. за 37°C. До основи середовища додавали компоненти наступного складу, г/л: Глюкоза – 19,7; Дріжджовий екстракт – 7,8; Кукурудзяний екстракт – 23,6; Казеїновий пептон – 9,1; Цитрат натрію – 6,6; Ацетат натрію – 3,4.

В результаті перевірки, значення оптичної густини для трьох реплік оптимізованого середовища одержане значення становило 2.01 ± 0.01 , тоді як для середовища МРС значення оптичної густини було на рівні $1,08 \pm 0.02$.

Таблиця 5.12.

Критичні точки концентрацій компонентів в середовищі

Компонент	Концентрація компонента в середовищі		
	Мінімальні досліджені	Максимальні досліджені	Оптимальні концентрації
Глюкоза	3,11	26,89	19,73
Дріжджовий екстракт	0,24	9,76	7,79
Кукурудзяний екстракт	3,11	26,89	23,56
Пептон	1,55	13,45	9,07
Цитрат натрію	0,24	9,76	6,62
Ацетат натрію	0,62	5,38	3,43
Теоретичний D_{max}			2,08

При визначенні виходу абсолютно сухої біомаси в кожному з середовищ для оптимізованого значення було майже в 2 рази більшим ніж контроль – $13,2 \pm 0,1$ г/л проти $7,3 \pm 0,1$ г/л.

5.6. Оптимізація значень рН та температури культивування

Для оптимізації рН та температури було вирішено обрати стандартні діапазони значень цих параметрів для лактобацил і ентерококів, 6-7 од., і 33-38 °С відповідно. Дослідження проводили по тому ж принципу що і для оптимізації поживного середовища. Для початку, встановлювали згідно ротатабельного центрально композиційного плану рівні змінних факторів, після чого встановлювали експериментальні значення відгуку оптичної густини для 12 варіантів.

Для початку, встановлювали згідно ротатабельного центрально композиційного плану рівні змінних факторів, після чого встановлювали експериментальні значення відгуку оптичної густини для 12 варіантів. Матриця цих даних наведена в табл. 5.13.

Згідно одержаним експериментальним значенням оптичної густини одержаних при культивуванні бактеріальної композиції, в якості математичної моделі було обрано поліномом регресії другого порядку (5.1).

Матриця значень параметрів для побудови поверхні відгуку

№	Значення змінних факторів		Відгук
	Z ₁ *	Z ₂ *	Y**
1	33,0	6,0	1,62
2	33,0	7,0	1,69
3	38,0	6,0	1,89
4	38,0	7,0	1,95
5	31,5	6,5	1,43
6	38,5	6,5	1,98
7	35,0	5,8	1,79
8	35,0	7,2	1,82
9	35,0	6,5	2,06
10	35,0	6,5	2,05
11	35,0	6,5	2,04
12	35,0	6,5	2,05

Примітка: * – фактори: Z₁ - t, °C; Z₂ – рН, од. ** – відгук: Y – оптична густина D, од.

Включення факторів в модель здійснювалося на основі значень по дисперсійному аналізу наведених в табл. 5.14.

Таблиця 5.14

Показники дисперсійного аналізу

№	Параметр		Критерії дисперсії				
			SS*	df*	MS*	F*	p*
1	Температура	Л**	0,130853	1	0,130853	1962,789	0,000025
		К**	0,197752	1	0,197752	2966,278	0,000014
2	рН	Л**	0,003716	1	0,003716	55,745	0,004975
		К**	0,095846	1	0,095846	1437,690	0,000040
Відсутність придатності			0,001079	4	0,000270	4,045	0,140118
Чиста помилка			0,000200	3	0,000067		
Загальна сума квадратів (SS)			0,445692	11			

Примітка: * – показники дисперсії: SS - сума квадратів; df – ступені свободи; MS - середня сума квадратів; F – критерій Фішера; p – статистична значимість. ** – тип залежності: Л - лінійна, К - квадратична.

Коефіцієнт детермінації визначений для даної моделі, значення якого становить $R^2 = 0.997$ свідчить про досить близьке наближення відгуку критерію оптимальності його реальним значенням. Саме тому, прогнозовані моделлю значення мають досить точно корелювати з експериментальними.

Коефіцієнти регресії одержані для побудови поверхонь відгуку критерію оптимальності (D) наведені в табл. 5.15. Аналіз показує відповідність коефіцієнтів для заданої довірчої ймовірності P= 95%. Одержане рівняння регресії з обрахованими коефіцієнтами має наступний вигляд (5.3):

$$Y = -55,3360 + 2,0022 \cdot Z_1 + 6,4068 \cdot Z_2 - 0,0275 \cdot Z_1^2 - 0,4895 \cdot Z_2^2 \quad (5.3)$$

Таблиця 5.15

Коефіцієнти регресії та їх статистична значимість

Фактор	Компонент		Коефіцієнти регресії (β_i)	Чиста помилка	Критерій Стьюдента (t)	p
	Вільний коефіцієнт	β_0	-55,3360	0,908948	-60,8792	0,000010
Z_1	Температура (t)	Л	2,0022	0,035630	56,1939	0,000012
		К	-0,0275	0,000504	-54,4635	0,000014
Z_2	Активна кислотність (pH)	Л	6,4068	0,167932	38,1512	0,000040
		К	-0,4895	0,012910	-37,9169	0,000040

На рис. 5.3 наведено поверхню відгуку оптичної густини від значень технологічних параметрів культивування. Як видно з рисунку значення оптимальних параметрів лежать в діапазонах 6,4-6,6 од. для рН, і в діапазоні від 36 до 37 °С, що є важливим враховуючи високу ймовірність незначних коливань параметрів при культивуванні.

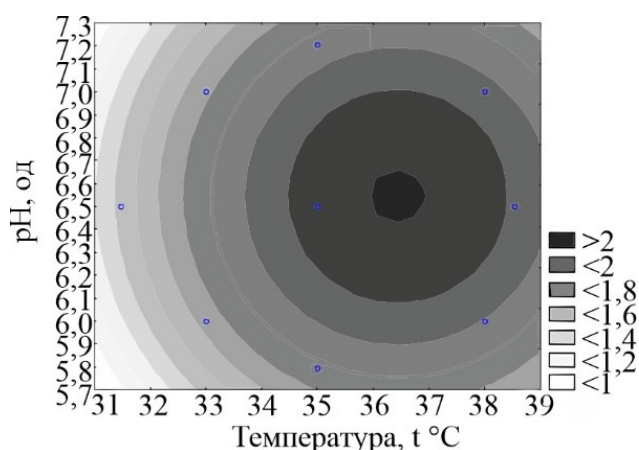


Рис. 5.3. Проекція поверхні відгуку оптичної густини (D, од) від параметрів культивування (температури, та рН).

Для встановлення значень температури та активної кислотності середовища культивування, за яких оптична густина буде мати максимальне значення було знайдено екстремум функції відгуку в точці максимуму. Результати розрахунків оптимальних значень параметрів наведено в табл. 5.16.

За розрахованих оптимальних параметрів теоретичний показник оптичної густини досягає значення $D = 2,10$.

Критичні точки параметрів культивування

Параметр	Значення параметру		
	Мінімальні досліджені	Максимальні досліджені	Оптимальні
Температура (t)	31,5	38,5	36,4
Активна кислотність (рН)	5,8	7,2	6,5
Теоретичний D_{max}			2,10

Для перевірки теоретично одержаних результатів було проведено культивування бактеріальної композиції в оптимізованому раніше середовищі, протягом 14 год. за $36,4 \pm 0,4^\circ\text{C}$ та за постійної підтримки значення рН в середовищі на рівні $6,5 \pm 0,1$ од. Для 3 реплік значення оптичної густини склало $2,07 \pm 0,01$ од. Порівняно з стандартними значеннями параметрів, що використовувалися на етапі оптимізації поживного середовища, збільшення незначне – 0,06 од, що в свою чергу підтверджує вдало обрані параметри ще на минулому етапі. Тоді як за межами цих діапазонів значень біомаса нарощується значно гірше.

5.7. Вибір захисного середовища для ліофілізації

На післяферментаційному етапі виробництва біопрепарату важливо враховувати умови збереження накопленої біомаси. При тривалому зберіганні молочнокислих бактерій в закритому об'ємі їх активність дуже швидко знижується. Тому рідкий препарат на основі їх біомаси має ефективність в застосуванні протягом лише декількох днів. Окрім того, враховуючи різну стійкість до умов середовища серед видів, які входять до бактеріальної композиції має місце і міжвидова конкуренція в популяції, внаслідок чого бактерії гинуть. Найбільш ефективною для збереження клітин бактерій є ліофілізація. Проте в умовах попередньої заморозки необхідним є використання захисного середовища до складу якого входять речовини з кріопротекторними властивостями. Вибір захисного середовища є вирішальним в забезпеченні збереженні цілісності клітин.

З метою визначення найкращого захисного середовища для висушування описаної трьоштамової бактеріальної композиції (*L.buchneri* 3806, *E. faecium* C-8-12, *L. plantarum* 3216), було обрано декілька раніше вже

досліджених варіантів, що забезпечують високу виживаність молочнокислих бактерій [119]. В якості критерію оцінювання було обрано ступінь виживання клітин в ході ліофілізації.

Захисне середовище для ліофілізації обирали за результатами наведеними в табл. 5.17.

Таблиця 5.17.

Вплив варіанту захисного середовища на ступінь виживання клітин

Варіант захисного середовища	$N_{\text{клітин}} \times 10^{-8}$ до ліофілізації, КУО/см ³	$N_{\text{клітин}} \times 10^{-8}$ після ліофілізації, КУО/см ³	Ступінь виживання, %
ЗС 1*	2,68±0.03	2,53±0.03	94,4
ЗС 2*	2,21±0.04	2,11±0.06	93,0
ЗС 3*	2,43±0.02	2,39±0.02	98,4
ЗС 4*	2,13±0.02	1,97±0.04	92,5
Контроль**	2,16±0.07	1,45±0.03	67,1

Примітка. *склад захисних середовищ: ЗС 1. Сухе знежирене молоко – 10 г, цитрат натрію – 0,2 г, сахароза - 1,0 г, сульфат магнію – 0,05 г, дистильована вода – до 100 см³; ЗС 2. Сухе знежирене молоко – 3 г, сахароза – 15 г, желатин – 5 г, дистильована вода – до 100 см³; ЗС 3. Цитрат натрію – 5 г, сахароза – 25 г, агар – 0,1 г, дистильована вода – до 100 см³; ЗС 4. Сухе знежирене молоко – 14 г, інозит – 10 г, агар – 0,1 г, дистильована вода – до 100 см³. ** - Контроль-дистильована вода.

Як видно з табл. 5.17 найбільший ступінь виживання бактеріальних клітин спостерігається при застосуванні ЗС 3 – 98,4%. Хоча інші середовища показали також коректні результати (92,5–94,5 %). Що порівняно з контролем, доводить ефективність використання саме цих кріопротекторних речовин в складі захисних середовищ.

Таким чином, розроблена біотехнологія препарату для силосування рекомендована до великомасштабних досліджень в пілотних ферментерах.

ВИСНОВКИ

1. Встановлено, що застосування препарату на основі біомаси штамів *Lactobacillus buchneri* 3806, *L. plantarum* 3216 та *Enterococcus faecium* C-8-12 сприяє покращенню хімічного складу силосу порівняно з необробленим контрольним та обробленим лише монокультурою *L. buchneri* 3806 зразками, а саме: спостерігається зменшення втрат сухих речовин на 2,21% та 2,04% відповідно, зниження рівню рН до 4,22 за рахунок інтенсивнішого накопичення молочної кислоти, що сприяє підвищенню аеробної стійкості силосу до 341 год. порівняно з контролем – 57 год., та застосуванням монопрепарату – 313 год., відповідно. А також, відмічено високу активність новоствореної композиції щодо пригнічення гнильної мікробіоти.

2. Підібрано склад компонентів поживного середовища, та оптимізовано їх концентрації з використанням методу ротатабельного центрального композиційного плану та статистичного аналізу. Оптимізоване рідке поживне середовище, мало наступний склад, г/л: основа – гідролізоване протосубтиліном молоко (з додаванням солей: калій фосфорнокислий однозаміщений – 2; марганець сірчаноокислий 5-водний – 0,05; магній сірчаноокислий 7-водний – 0,2, твін-80 – 1,0), глюкоза – 19,7; дріжджовий екстракт – 7,8; кукурудзяний екстракт – 23,6; казеїновий пептон – 9,1; цитрат натрію – 6,6; ацетат натрію – 3,4. Культивування бактеріальної композиції на оптимізованому середовищі дало змогу отримати максимальний вихід біомаси – $13,2 \pm 0,1$ г/л, що майже вдвічі більше ніж аналогічний показний одержаний на середовищі МРС – $7,3 \pm 0,1$ г/л.

3. Встановлено оптимальні технологічні параметри росту бактеріальної композиції, а саме найкращий ріст спостерігався за температури $36,4 \pm 0,4^\circ\text{C}$ та за постійної підтримки значення рН в середовищі на рівні $6,5 \pm 0,1$ од. Для збереження життєздатності клітин молочнокислих бактерій для умов ліофілізації підібрано захисне середовище, яке забезпечує ступінь виживання 98,4%, та містить в якості кріопротекторних речовин – цитрат натрію, сахарозу та агар-агар.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Contreras-Govea F. E., Muck R. E., Broderick G. A., Weimer P. J. *Lactobacillus plantarum* effects on silage fermentation and in vitro microbial yield. *Animal Feed Science and Technology*. 2013, 179(1-4): 61-68. doi: 10.1016/j.anifeedsci.2012.11.008.
2. Wang Y., Wang C., Zhou W., Yang F. Y., Chen X. Y., Zhang Q. Effects of wilting and *Lactobacillus plantarum* addition on the fermentation quality and microbial community of *Moringa oleifera* leaf silage. *Frontiers in microbiology*. 2018, 9: 1817. doi: 10.3389 / fmicb.2018.01817.
3. Zielińska K., Fabiszewska A., Świątek M., Szymanowska-Powałowska D. Evaluation of the ability to metabolize 1,2-propanediol by heterofermentative bacteria of the genus *Lactobacillus*. *Electron J Biotechnol*. 2017, 26: 60–63. doi:10.1016/j.ejbt.2017.01.002.
4. Basso F.C., Bernardes T. F., Roth A. P. D. T. P., Lodo B.N., Berchielli T.T., Reis R. A. Ферментація та аеробна стійкість кукурудзяного силосу, прищепленого *Lactobacillus buchneri*. *Revista Brasileira de Zootecnia*. 2012: 41(7): 1789-1794.
5. Reich L. J., Kung Jr. L. Effects of combining *Lactobacillus buchneri* 40788 with various lactic acid bacteria on the fermentation and aerobic stability of corn silage. *Animal Feed Science and Technology*. 2010, 159 (3-4): 105-109. doi: 10.1016 / j.anifeedsci.2010.06.002.
6. Queiroz O. C. M., Arriola K. G., Daniel J. L. P., Adesogan A. T. Effects of 8 chemical and bacterial additives on the quality of corn silage. *J. Dairy Sci*. 2013, 96: 5836–5843. doi: 10.3168/jds.2013-6691.
7. Herrmann C., Idler C., Heiermann M. Improving aerobic stability and biogas production of maize silage using silage additives. *Bioresource Technology*. 2015, 197: 393-403. doi: 10.1016/j.biortech.2015.08.114.
8. Zwielehner J., Jatkauskas J., Vrotnikiene V. Silage fermentation quality in whole plant maize inoculated with a novel formulation of a biological inoculant

with the recently EU-authorized *Lactobacillus kefir*. 13. *BOKU-Symposium TIERERNÄHRUNG*. 2014: 259-263.

9. Чернюк С.В., Загородній А.П. Ефективність застосування мікробних препаратів під час консервування кукурудзяного силосу. *Технологія виробництва і переробки продукції тваринництва*. 2014, 1: 46-49.

10. Ni K., Wang Y., Li D., Cai Y., Pang H. Characterization, identification and application of lactic acid bacteria isolated from forage paddy rice silage. *PLoS one*. 2015, 10 (3): e0121967. doi: 10.1371 / journal.pone.0121967.

11. Valan Arasu M., Jung M. W., Ilavenil S., Kim D. H., Park H. S., Park J. W., Choi K. C. Characterization, phylogenetic affiliation and probiotic properties of high cell density *Lactobacillus* strains recovered from silage. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 2014, 94(12): 2429-2440. doi: 10.1002/jsfa.6573

12. Беспоместных К. В. Изучение влияния состава питательной среды на изменение биохимических и морфологических свойств штаммов лактобацилл. *Современные проблемы науки и образования*. 2014, 6: 259-259.

13. Кудряшов В. Л., Лукин Н. Д., Оверченко М. Б., Погоржельская Н. С., Постникова В. Е., Соколова Е. Н., Фурсова Н. А. Ультракonzцентрат кукурузного экстракта-перспективный компонент питательных сред: технология производства и перспектива использования. *Перспективные биотехнологические процессы в технологиях продуктов питания и кормов*. 2014: 379-385.

14. Coelho L. F., De Lima C. J. B., Rodovalho C. M., Bernardo M. P., Contiero J. Lactic acid production by new *Lactobacillus plantarum* LMISM6 grown in molasses: optimization of medium composition. *Brazilian Journal of Chemical Engineering*. 2019, 28(1): 27-36.

15. Yitbarek M. B., Tamir B. Silage additives. *Open Journal of Applied Sciences*. 2014, 4(5): 258-274. doi: 10.4236/ojapps.2014.45026.

16. Kung Jr. L., Shaver R. D., Grant R. J., Schmidt R. J. Silage review: Interpretation of chemical, microbial, and organoleptic components of

silages. *Journal of dairy Science*. 2018, 101(5): 4020-4033. doi: 10.3168/jds.2017-13909.

17. Jonsson A. Growth of *Clostridium tyrobutyricum* during fermentation and aerobic deterioration of grass silage. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 1991, 54(4): 557-568. doi: 10.1002/jsfa.2740540407.

18. Borreani G., Tabacco E. The relationship of silage temperature with the microbiological status of the face of corn silage bunkers. *Journal of Dairy Science*. 2010, 93(6): 2620-2629. doi: 10.3168/jds.2009-2919.

19. Tennant R. K., Sambles C. M., Diffey G. E., Moore K. A., Love J. Metagenomic Analysis of Silage. *J. Vis. Exp.* 2017, 119: e54936. doi: 10.3791/54936.

20. Satter L. D., Reis R. B. Milk production under confinement conditions. *US. Dairy Forage Research Center, USDA-ARS and Dairy Science Department*. University of Wisconsin, Madison, Wisconsin, USA. 2012.

21. Sebata A. An Insight into Current and Future Production of Forage Crops in Zimbabwe. *New Perspectives in Forage Crops*. 2018. doi: 10.5772/intechopen.71997.

22. Silva M. S. J. D., Jobim C. C., Poppi E. C., Tres T. T., Osmari M. P. Production technology and quality of corn silage for feeding dairy cattle in Southern Brazil. *Revista Brasileira de Zootecnia*. 2015, 44(9): 303-313.

23. Maasdorp B., Titterton M. The use of planted trees for fodder. *Proceedings of workshop on Livestock Production Research in the Semi-Arid Tropics, held by Department for International Development (DFID)*. Matopos, Zimbabwe. Feb.1999.

24. Amer S., Seguin P., Mustafa A. F. Effects of feeding sweet sorghum silage on milk production of lactating dairy cows. *Journal of dairy science*. 2012, 95(2): 859-863. doi: 10.3168/jds.2011-4884.

25. Rodrigues A. L. P., Sampaio I. B. M., Carneiro J. C., Tomich T. R., Martins R. G. R. Degradabilidade in situ da matéria seca de forrageiras tropicais

obtidas em diferentes épocas de corte. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*. 2004, 56(5): 658-664. doi: 10.1590/S0102-09352004000500014.

26. Зенькова Н. Н., Разумовский Н. П., Сучкова И. В., Моисеева М. О. Химический состав и питательность комбинированных силосов из кукурузы и многолетних бобовых трав. *Ученые записки УО ВГАВМ*. 2019 55(2):118-121.

27. Дьяченко Л. А., Секанов Ю. П. Управление ферментацией при инструментальной оценке силосуемости кормов. *Вестник Всероссийского научно-исследовательского института механизации животноводства*. 2014, 4 (16): 120-126.

28. Олександрюк В. І., Омельченко Н. М., Кучерява В. А. Цукрове сорго як сировина для виробництва біоетанолу. *Біологічні дослідження–2015: Збірник наукових праць*. 2015: 449-451.

29. Пигорев И. Я. Сахарное сорго перспективная кормовая культура. *Вестник Курской государственной сельскохозяйственной академии*. 2010, 3(3): 28-30.

30. Победнов Ю. А., Кучин И. В. Физиолого-биохимические процессы, происходящие в кормовых травах при выращивании, как фактор, влияющий на их технологические свойства при силосовании и качество объёмистых кормов. *Проблемы биологии продуктивных животных*. 2015, (1): 70-83.

31. Теличко О. Н. Биохимический состав и продуктивность зелёной массы травосмесей однолетних трав в зависимости от укоса. *Современное экологическое состояние природной среды и научно-практические аспекты рационального природопользования*. 2016: 1950-1958.

32. Сироватко К.М. Вплив біологічного консерванту на якість та продуктивну дію сінажу. *Аграрна наука та харчові технології*. 2017, 1(95): 90-96.

33. Курнаев О. Якість та енергетична поживність люцернового силосу при застосуванні бактеріально-ферментного препарату. *Тваринництво України*. 2015, 4: 40-42.

34. Seppälä A., Heikkilä T., Mäki M., & Rinne M. Effects of additives on the fermentation and aerobic stability of grass silages and total mixed rations. *Grass and forage Science*. 2016, 71(3), 458-471. doi: 10.1111/gfs.12221
35. Wróbel B., Zielińska K. J., Fabiszewska A. U. The effect of biological additives on aerobic stability of silages from meadow sward intended for feeding and energy production. *Journal of Research and Applications in Agricultural Engineering*. 2017, 62(4): 205-210.
36. Driehuis F., Oude Elferink S. J. W. H., Van Wikselaar P. G. Fermentation characteristics and aerobic stability of grass silage inoculated with *Lactobacillus buchneri*, with or without homofermentative lactic acid bacteria. *Grass and Forage Science*. 56(4): 330-343. doi: 10.1046/j.1365-2494.2001.00282.x.
37. Herrmann C., Idler C., Heiermann M. Improving aerobic stability and biogas production of maize silage using silage additives. *Bioresource Technology*. 2015, 197: 393-403. doi: 10.1016/j.biortech.2015.08.114.
38. Marković J., Blagojević M., Kostić I., Vasić T., Anđelković S., Petrović M., Štrbanović R.. Effect of bacterial inoculants application and seeding rate on common vetch-oat silage quality. *Biotehnologija u Stocarstvu Biotechnology in Animal Husbandry*. 2019, 34(2): 251-257. doi: 10.2298/bah1802251m.
39. Pahlow G., Muck R. E., Driehuis F., Elferink S. J. O., Spoelstra S. F. Microbiology of ensiling. *Silage science and technology*. 2003, 42: 31-93.
40. Kung Jr L. A Review on Silage Additives and Enzymes. *Department of Animal and Food Sciences University of Delaware Newark*. DE 19717-1303.
41. Lavermicocca P., Valerio F., Evidente A., Lazzaroni S., Corsetti A., Gobbetti M. Purification and Characterization of Novel Antifungal Compounds from the Sourdough *Lactobacillus plantarum* Strain 21B. *Applied and Environmental Microbiology*. 2000, 66(9): 4084-4090. doi:10.1128/aem.66.9.4084-4090.2000.
42. Ström K., Sjögren J., Broberg A., Schnürer J. *Lactobacillus plantarum* MiLAB 393 produces the antifungal cyclic dipeptides cyclo (L-Phe-L-Pro) and

cyclo (L-Phe-trans-4-OH-L-Pro) and 3-phenyllactic acid. *Appl. Environ. Microbiol.* 2012, 68(9): 4322-4327. doi: 10.1128 / aem.68.9.4322-4327.2002.

43. Dieuleveux V., Gueguen M. Antimicrobial effects of D-3- phenyllactic acid on *Listeria monocytogenes* in TSB-YE medium, milk, and cheese. *J. Food Prot.* 1998, 61:1281–1285. doi: 10.4315 / 0362-028x-61.10.1281.

44. Dieuleveux V., Lemarinier S., Gueguen M. Antimicrobial spectrum and target site of D-3-phenyllactic acid. *Int. J. Food Microbiol.* 1998a, 40: 177–183. doi: 10.1016 / s0168-1605 (98) 00031-2.

45. Dieuleveux V., Van Der Pyl. D., Chataud J., Gueguen M. Purification and characterization of anti-*Listeria* compounds produced by *Geotrichum candidum*. *Appl. Environ. Microbiol.* 1998b, 64: 800–803.

46. Weinberg Z. G., Ashbell G., Hen Y., Azrieli A. The effect of applying lactic acid bacteria at ensiling on the aerobic stability of silages *J. Appl. Bacteriol.* 1993, 75: 512-518. doi: 10.1111/j.1365-2672.1993.tb01588.x.

47. Danner H., Holzer M., Mayrhuber E., Braun R. Acetic acid increases stability of silage under aerobic conditions. *Appl. Environ. Microbiol.* 2003, 69: 562-567. doi: 10.1128 / aem.69.1.562-567.2003.

48. Ozkose E., Akyol I., Kar B., Comlekcioglu U., Ekinci M. S. Expression of fungal cellulase gene in *Lactococcus lactis* to construct novel recombinant silage inoculants. *Folia microbiologica.* 2009, 54(4): 335-342. doi: 10.1007 / s12223-009-0043-4.

49. Zielińska K., Fabiszewska A., Świątek M., Szymanowska-Powałowska D. Evaluation of the ability to metabolize 1,2-propanediol by heterofermentative bacteria of the genus *Lactobacillus*. *Electron J Biotechnol.* 2017, 26: 60–63. doi:10.1016/j.ejbt.2017.01.002.

50. Kleinschmit D. H., Kung Jr L. A meta-analysis of the effects of *Lactobacillus buchneri* on the fermentation and aerobic stability of corn and grass and small-grain silages. *Journal of dairy Science.* 2006, 89(10): 4005-4013. doi: 10.3168 / jds.S0022-0302 (06) 72444-4.

51. Nsereko V.L., Smiley B.K., Rutherford W.M., Spielbauer A., Forrester K.J., Hettinger G.H., Harman E.K., Harman B.R. Influence of inoculating forage with lactic acid bacterial strains that produce ferulate esterase on ensilage and ruminal degradation of fiber. *Anim. Feed Sci. Technol.* 2008, 145: 122-135. doi: 10.1016 / j.anifeedsci.2007.06.039.

52. Hofherr M. W., Reich L. J., Der Bedrosian M. C., Santos M. C., Hu W., Kung Jr L. Effect of a microbial inoculant producing ferulic acid esterase on the fermentation and NDF digestibility of normal and BMR corn silages. *J. Dairy Sci.* 2008, 91: 32.

53. Kang T. W., Adesogan A. T., Kim S. C., Lee S. S. Effects of an esterase-producing inoculant on fermentation, aerobic stability, and neutral detergent fiber digestibility of corn silage. *Journal of dairy science.* 2009, 92(2): 732-738. doi:10.3168/jds.2007-0780.

54. Jin L., Duniere L., Lynch J. P., McAllister T. A., Baah J., Wang Y. Impact of ferulic acid esterase producing lactobacilli and fibrolytic enzymes on conservation characteristics, aerobic stability and fiber degradability of barley silage. *Animal Feed Science and Technology.* 2015, 207: 62-74. doi: 10.1016 / j.anifeedsci.2015.06.011.

55. Jin L., Duniere L., Lynch J. P., Zaheer R., Turkington K., Blackshaw R. E., Baah J. Impact of ferulic acid esterase-producing lactobacilli and fibrolytic enzymes on ensiling and digestion kinetics of mixed small-grain silage. *Grass and Forage Science.* 2017, 72(1): 80-92. doi: 10.1111/gfs.12217.

56. Valerio F., Lavermicocca P., Pascale M., Visconti A. Production of phenyllactic acid by lactic acid bacteria: an approach to the selection of strains contributing to food quality and preservation. *FEMS microbiology letters.* 2004, 233(2): 289-295. doi: 10.1111/j.1574-6968.2004.tb09494.x.

57. Moon N.J. Inhibition of the growth of acid tolerant yeasts by acetate, lactate and propionate and their synergistic mixtures *J. Appl. Bacteriol.* 1983, 55: 454-460. doi: 10.1111/j.1365-2672.1983.tb01685.x.

58. Arriola K. G., Kim S. C., Adesogan A. T. Effect of applying inoculants with heterolactic or homolactic and heterolactic bacteria on the fermentation and quality of corn silage. *Journal of dairy science*. 2011, 94(3): 1511-1516. doi: 10.3168/jds.2010-3807.
59. Ni K., Wang Y., Li D., Cai Y., Pang H. Characterization, identification and application of lactic acid bacteria isolated from forage paddy rice silage. *PloS one*. 2015, 10(3).
60. Ni K., Wang, Y., Cai Y., Pang H. Natural lactic acid bacteria population and silage fermentation of whole-crop wheat. *Asian-Australasian journal of animal sciences*. 2015, 28(8): 1123.
61. Valan Arasu M., Jung M. W., Ilavenil S., Kim D. H., Park H. S., Park J. W., Choi K. C. Characterization, phylogenetic affiliation and probiotic properties of high cell density *Lactobacillus* strains recovered from silage. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 2014, 94(12): 2429-2440. doi: 10.1002/jsfa.6573.
62. Pholsen S., Khota W., Pang H., Higgs D., Cai Y. Characterization and application of lactic acid bacteria for tropical silage preparation. *Animal Science Journal*. 2016, 87(10): 1202-1211. doi: 10.1111/asj.12534.
63. Xu Z., He H., Zhang S., Kong J. Effects of inoculants *Lactobacillus brevis* and *Lactobacillus parafarraginis* on the fermentation characteristics and microbial communities of corn stover silage. *Sci Rep*. 2017, 7(1): 13614. doi:10.1038/s41598-017-14052-1.
64. Herrmann C., Idler C., Heiermann M. Improving aerobic stability and biogas production of maize silage using silage additives. *Bioresource Technology*. 2015, 197: 393-403. doi: 10.1016/j.biortech.2015.08.114.
65. Zwielehner J., Jatkauskas J., Vrotnikiene V. Silage fermentation quality in whole plant maize inoculated with a novel formulation of a biological inoculant with the recently EU-authorized *Lactobacillus kefir*. 13. *BOKU-Symposium TIERERNÄHRUNG*. 2014: 259-263.

66. Сычевський Н.П.; Копылова К.В.; Даниленко С.Г. Эффективность препарата «Сеносил» для консервирования силоса. *Зерновые продукты и комбикорма*. 2016, 3(63): 16-21.

67. Chernyuk S., Zahorodnii A., Chernyavskyy O., Polishchuk V., Polishchuk S., Karaulna V., Sobolev O., Merzlova H., Sliusarenko A., Fedorchenko M. Biological conservants impact on the silage quality and aerobic stability. *Ukrainian Journal of Ecology*. 2019, 9(1): 226-230.

68. Чернюк С.В., Загородній А.П. Ефективність застосування мікробних препаратів під час консервування кукурудзяного силосу. *Технологія виробництва і переробки продукції тваринництва*. 2014, 1: 46-49.

69. Шульга Ю., Жуков В. Ефективність використання універсального біологічного консерванту «Силакпро» при силосуванні кормів. *Журнал про корів*. 2019, 1: 23-25.

70. Seppälä A., Heikkilä T., Mäki M., & Rinne M. Effects of additives on the fermentation and aerobic stability of grass silages and total mixed rations. *Grass and forage Science*. 2016, 71(3), 458-471. doi: 10.1111/gfs.12221.

71. Wróbel B., Zielińska K. J., Fabiszewska A. U. The effect of biological additives on aerobic stability of silages from meadow sward intended for feeding and energy production. *Journal of Research and Applications in Agricultural Engineering*. 2017, 62(4): 205-210.

72. Araki H. M. C., de Oliveira E. R., Gandra J. R., de Goes R. H. T. B., Takiya C. S., Jacaúna A. G., Duan Orbach N. Association of Biological and Chemical Additives on Nutrient Composition, Total Losses, Microbiological and Fermentative Profile of Sugarcane Silage. *Iranian Journal of Applied Animal Science*. 2017, 7(4): 577-584.

73. Li X., Xu W., Yang J., Zhao H., Pan C., Ding X., Zhang, Y. Effects of applying lactic acid bacteria to the fermentation on a mixture of corn steep liquor and air-dried rice straw. *Animal Nutrition*. 2016, 2(3): 229-233. doi:10.1016/j.aninu.2016.04.003.

74. Ni K., Wang Y., Pang H., Cai Y. Effect of cellulase and lactic acid bacteria on fermentation quality and chemical composition of wheat straw silage. *American Journal of Plant Sciences*. 2014, 5(13), 1877 -1884.

75. Шинкаревич, Е. Д. Эффективность применения сухих и жидких форм бактериальных силосных консервантов. *Электронный научно-методический журнал Омского ГАУ*. 2016, 2: 44.

76. Прищепа Л. И., Василенко С. Л., Фурик Н. Н. Молочнокислые микроорганизмы в составе биоконсервантов для силосования растительного сырья. *Земледелие и защита растений*. 2016, 1: 69.

77. Гора О. Н., Павлов И. Н. Разработка технологии получения сухих форм пробиотических препаратов. *ББК*. 2010, 34(7), т.38: 7.

78. Лаптев Г., Новикова Н., Биконя С., Грудинина Т. Быстрый старт— залог успешного силосования. *Животноводство России*. 2016, 4: 65-65.

79. Kizilsimsek M., Schmidt R. J., Kung Jr L. Effects of a mixture of lactic acid bacteria applied as a freeze-dried or fresh culture on the fermentation of alfalfa silage. *Journal of dairy Science*. 2007, 90(12): 5698-5705. doi:10.3168/jds.2007-0448.

80. Whiter A. G., Kung Jr L. The effect of a dry or liquid application of *Lactobacillus plantarum* MTD1 on the fermentation of alfalfa silage. *Journal of dairy science*. 2001, 84(10): 2195-2202. doi: 10.3168/jds.S0022-0302(01)74666-8.

81. Wegkamp A., Teusink B., De Vos W. M., Smid E. J. Development of a minimal growth medium for *Lactobacillus plantarum*. *Letters in applied microbiology*. 2010, 50(1): 57-64. doi: 10.1111/j.1472-765X.2009.02752.x.

82. Гизатова Н. В., Миронова И. В. Обоснование подбора видов микроорганизмов для обработки коллагенсодержащего сырья. *Инновационные технологии и технические средства для АПК* (15-17 ноября, 2016, Воронеж, Российская Федерация). С. 149-152.

83. Кудряшов В. Л., Лукин Н. Д., Оверченко М. Б., Погоржельская Н. С., Постникова В. Е., Соколова Е. Н., Смирнова И. А., Фурсова Н. А. Ультраконцентрат кукурузного экстракта-перспективный компонент

питательных сред: технология производства и перспектива использования. VII Международный научно-практический симпозиум "Перспективные ферментные препараты и биотехнологические процессы в технологиях продуктов питания и кормов" (09 апреля 2014, Москва, Российская Федерация). С. 379-385.

84. Fu W., Mathews A. P. Lactic acid production from lactose by *Lactobacillus plantarum*: kinetic model and effects of pH, substrate, and oxygen. *Biochemical Engineering Journal*. 1999, 3(3): 163–170. doi:10.1016/s1369-703x(99)00014-5.

85. Ma C., Cheng G., Liu Z., Gong G., Chen Z. Determination of the essential nutrients required for milk fermentation by *Lactobacillus plantarum*. *LWT - Food Science and Technology*. 2016, 65: 884–889. doi:10.1016/j.lwt.2015.09.003.

86. Дерунец А. С. Биологические основы совершенствования культивирования молочнокислых бактерий для разработки высокоэффективной технологии получения молочной кислоты. дис. ... канд. биол. наук: 03.01.06 / Российский химико-технологический университет им. Д. И. Менделеева. Москва, 2020. 185 с.

87. Polak-Berecka M., Waśko A., Kordowska-Wiater M., Podleśny M., Targoński, Z., Kubik-Komar A. Optimization of medium composition for enhancing growth of *Lactobacillus rhamnosus* PEN using response surface methodology. *Pol J Microbiol*. 2010, 59(2): 113-118. doi: 10.33073/pjm-2010-017.

88. Desai K. M., Akolkar S. K., Badhe Y. P., Tambe S. S., Lele S. S. Optimization of fermentation media for exopolysaccharide production from *Lactobacillus plantarum* using artificial intelligence-based techniques. *Process Biochemistry*. 2006, 41(8): 1842-1848. doi: 10.1016/j.procbio.2006.03.037.

89. Hwang C. F., Chang J. H., Hwang J. Y., Tsai C. C., Lin C. K., Tsen H. Y. Optimization of medium composition for improving biomass production of *Lactobacillus plantarum* Pi06 using the Taguchi array design and the Box-

Behnken method. *Biotechnology and bioprocess engineering*. 2012, 17(4), 827-834. doi: 10.1007/s12257-012-0007-4.

90. Домотенко Л. В., Шепелин А. П., Детушев К. В. Сравнительные испытания Лактобакагара и Mrs агара. *Курский научно-практический вестник «Человек и его здоровье»*. 2014, 4: 5-10.

91. De Man J. C., Rogosa D. M., Sharpe M. E. A medium for the cultivation of lactobacilli. *Journal of applied Bacteriology*. 1960, 23(1): 130-135. doi: 10.1111/j.1365-2672.1960.tb00188.x.

92. Edward V. A., Huch M., Dortu C., Thonart P., Egounlety M., Van Zyl P. J., Singh S., Holzapfel W. H., Franz C. M. A. P. Biomass production and small-scale testing of freeze-dried lactic acid bacteria starter strains for cassava fermentations. *Food Control*. 2010, 22(3-4), 389–395. doi:10.1016/j.foodcont.2010.09.008.

93. Babu V., Mital B. K., Garg S. K. Effect of tomato juice addition on the growth and activity of *Lactobacillus acidophilus*. *International journal of food microbiology*. 1992, 17(1): 67-70. doi: 10.1016/0168-1605(92)90020-4.

94. Aguirre-Ezkauriatza E. J., Aguilar-Yáñez J. M., Ramírez-Medrano A., Alvarez M. M. Production of probiotic biomass (*Lactobacillus casei*) in goat milk whey: Comparison of batch, continuous and fed-batch cultures. *Bioresource Technology*. 2010, 101(8): 2837-2844. doi: 10.1016/j.biortech.2009.10.047.

95. Даниленко С. Г. Біотехнологія бактеріального препарату «ЛЛР». *Науковий вісник Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького*. 2013, 15(3-4): 55-62.

96. Lavinia B. C., Manea I., Bratu M. G., Avram D., Nicolescu C. L. Evaluation of the cabbage and cucumber juices as substrate for *Lactobacillus acidophilus* LA-5. *Romanian Biotechnological Letters*. 2012, 17(4): 7418–7429.

97. Nagpal R., Kumar A., Kumar M. Fortification and fermentation of fruit juices with probiotic lactobacilli. *Annals of microbiology*. 2012, 62(4): 1573-1578. doi: 10.1007/s13213-011-0412-5.

98. Dimitrovski D., Velickova E., Langerholc T., Winkelhausen E. Apple juice as a medium for fermentation by the probiotic *Lactobacillus plantarum* PCS 26 strain. *Annals of microbiology*. 2015, 65(4): 2161-2170.

99. Hertzberger R. Y., Pridmore R. D., Gysler C., Kleerebezem M., de Mattos M. J. T. Oxygen relieves the CO₂ and acetate dependency of *Lactobacillus johnsonii* NCC 533. *PloS one*. 2013, 8(2): e57235. doi: 10.1371/journal.pone.0057235.

100. Волосянко О. В., Ушкалов В. О., Терещенко С. А., Жукова О. В., Марущак Л. В. (2018). Бактерії роду *Lactobacillus* у харчовій промисловості. *Наукові доповіді НУБіП України*. 2018, 6(76). doi: 10.1159/000308518.

101. Бояринева И. В., Хамагаева И. С. Исследование условий культивирования микрофлоры симбиотической закваски для хлебопекарного производства. *Вестник ВСГУТУ*. 2015, 2: 74-80.

102. Polak-Berecka M., Waśko A., Kordowska-Wiater M., Targoński Z., Kubik-Komar A. Application of response surface methodology to enhancement of biomass production by *Lactobacillus rhamnosus* E/N. *Brazilian Journal of Microbiology*. 2011, 42(4): 1485-1494. doi: 10.1590/S1517-838220110004000035.

103. Короткая Е. В., Короткий И. А., Ибрагимова Е. А. Исследование влияния режимов замораживания и низкотемпературного хранения на качественные показатели молочнокислых заквасок. *Вестник КрасГАУ*. 2011, 7: 196-200.

104. Похиленко В. Д., Баранов А. М., Детушев К. В. Методы длительного хранения коллекционных культур микроорганизмов и тенденции развития. *Известия ВУЗов. Поволжский регион. Медицинские науки*. 2009, 4: 99-121.

105. Савкина О. А., Терновской Г. В., Локачук М. Н., Павловская Е. Н., Сафронова В. И. Криоконсервация перспективный метод хранения

промышленно ценных штаммов молочнокислых бактерий и дрожжей. *Сельскохозяйственная биология*. 2014, 4: 112-119.

106. Жарко М. Ю., Белуков С. В. Криогранулирование молочнокислых бактерий с высоким показателем криоустойчивости. *Холодильная техника*. 2017, 5: 42-47.

107. Новик Г. И., Сидоренко А. В. Криоконсервация пробиотических микроорганизмов. *Проблемы криобиологии*. 2008, 18 (2): 215-215.

108. Кузнецов А. Е. Биологические основы совершенствования культивирования молочнокислых бактерий для разработки высокоэффективной технологии получения молочной кислоты. Автореф. дис. канд. тех. наук. Москва, 2020. 15 с.

109. Maciel G. M., Chaves K. S., Grosso C. R. F., Gigante M. L. Microencapsulation of *Lactobacillus acidophilus* La-5 by spray-drying using sweet whey and skim milk as encapsulating materials. *Journal of dairy science*. 2014, 97(4): 1991-1998. doi: 10.3168/jds.2013-7463.

110. Soukoulis C., Behboudi-Jobbehdar S., Yonekura L., Parmenter C., Fisk I. Impact of milk protein type on the viability and storage stability of microencapsulated *Lactobacillus acidophilus* NCIMB 701748 using spray drying. *Food and bioprocess technology*. 2014, 7(5): 1255-1268. doi: 10.1007/s11947-013-1120-x.

111. Utami T., Harmayani E., Rahayu E. S. Survival of *Lactobacillus plantarum* Dad 13 during spray drying and its application for yoghurt fermentation. *Int. Res. J. Biol. Sci.* 2016, 5: 16-22.

112. Shokri Z., Fazeli M. R., Ardjmand M., Mousavi S. M., Gilani K. Factors affecting viability of *Bifidobacterium bifidum* during spray drying. *DARU Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2015, 23(1): 7. doi: 10.1186/s40199-014-0088-z.

113. Сидорчук А. А., Краснова А. А. Сохранность культур бактерий различных групп при длительном хранении в лиофилизованном состоянии. *Российский ветеринарный журнал*. 2016, 3: 22-25.

114. Strasser S., Neureiter M., Geppl M., Braun R., Danner H. Influence of lyophilization, fluidized bed drying, addition of protectants, and storage on the viability of lactic acid bacteria. *Journal of Applied Microbiology*. 2009, 107(1): 167-177. doi: 10.1111/j.1365-2672.2009.04192.x.

115. Carvalho A. S., Silva J., Ho P., Teixeir, P., Malcata F. X., Gibbs P. Effect of various growth media upon survival during storage of freeze-dried *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus durans*. *Journal of Applied Microbiology*. 2003, 94(6): 947-952. doi: 10.1046/j.1365-2672.2003.01853.x.

116. Carvalho A. S., Silva J., Ho P., Teixeira P., Malcata F. X., Gibbs, P. Relevant factors for the preparation of freeze-dried lactic acid bacteria. *International Dairy Journal*. 2014, 14(10): 835-847. doi: 10.1016/j.idairyj.2004.02.001.

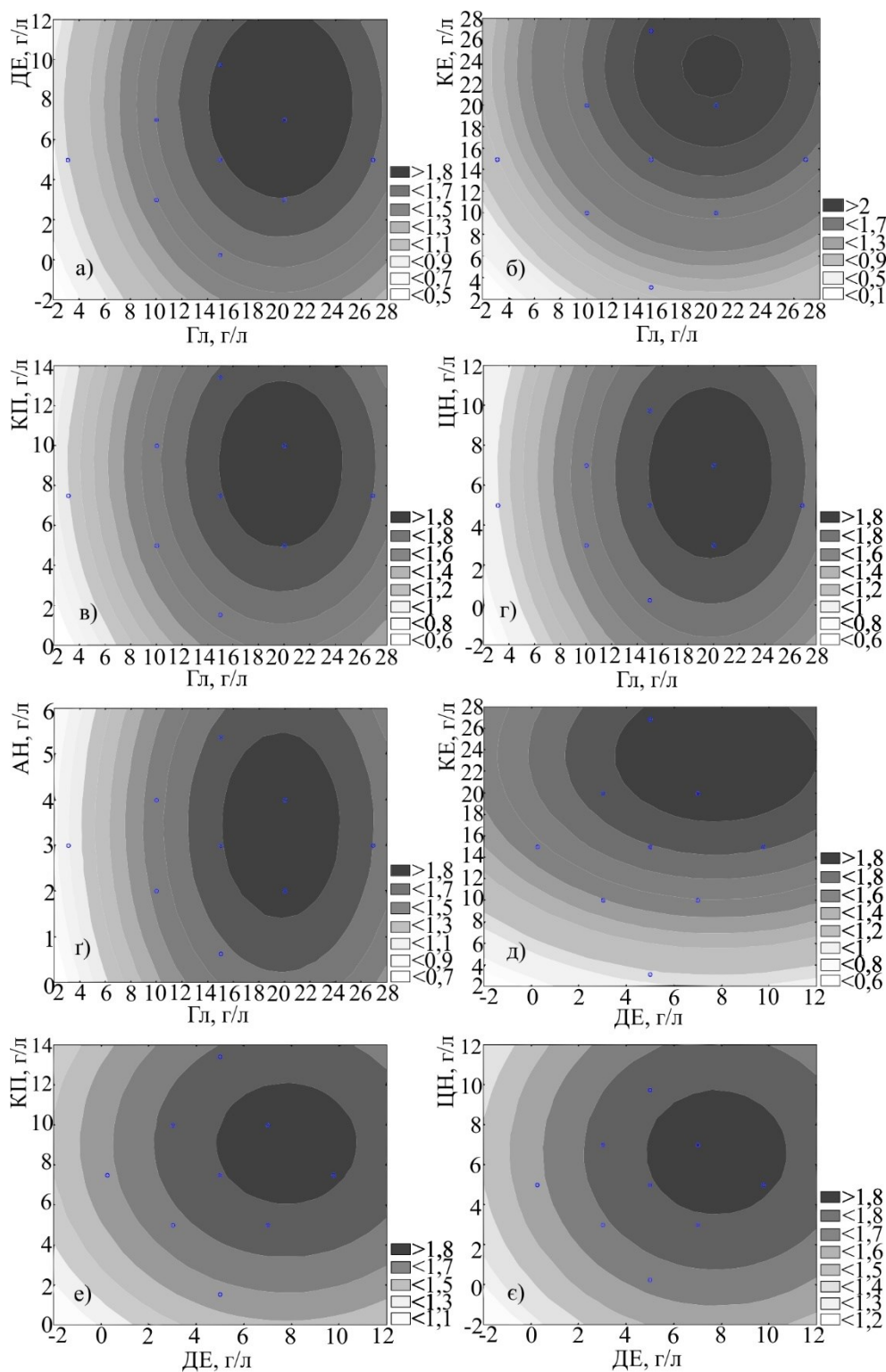
117. Otero M. C., Espeche M. C., Nader-Macías M. E. Optimization of the freeze-drying media and survival throughout storage of freeze-dried *Lactobacillus gasseri* and *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *delbrueckii* for veterinarian probiotic applications. *Process Biochemistry*. 2007, 42(10): 1406-1411. doi: 10.1016/j.procbio.2007.07.008.

118. Pyar H., Peh K. K. Effect of cryoprotective agents on survival and stability of *Lactobacillus acidophilus* cultured in food-grade medium. *International journal of dairy technology*. 2011, 64(4): 578-584. doi: 10.1111/j.1471-0307.2011.00715.x.

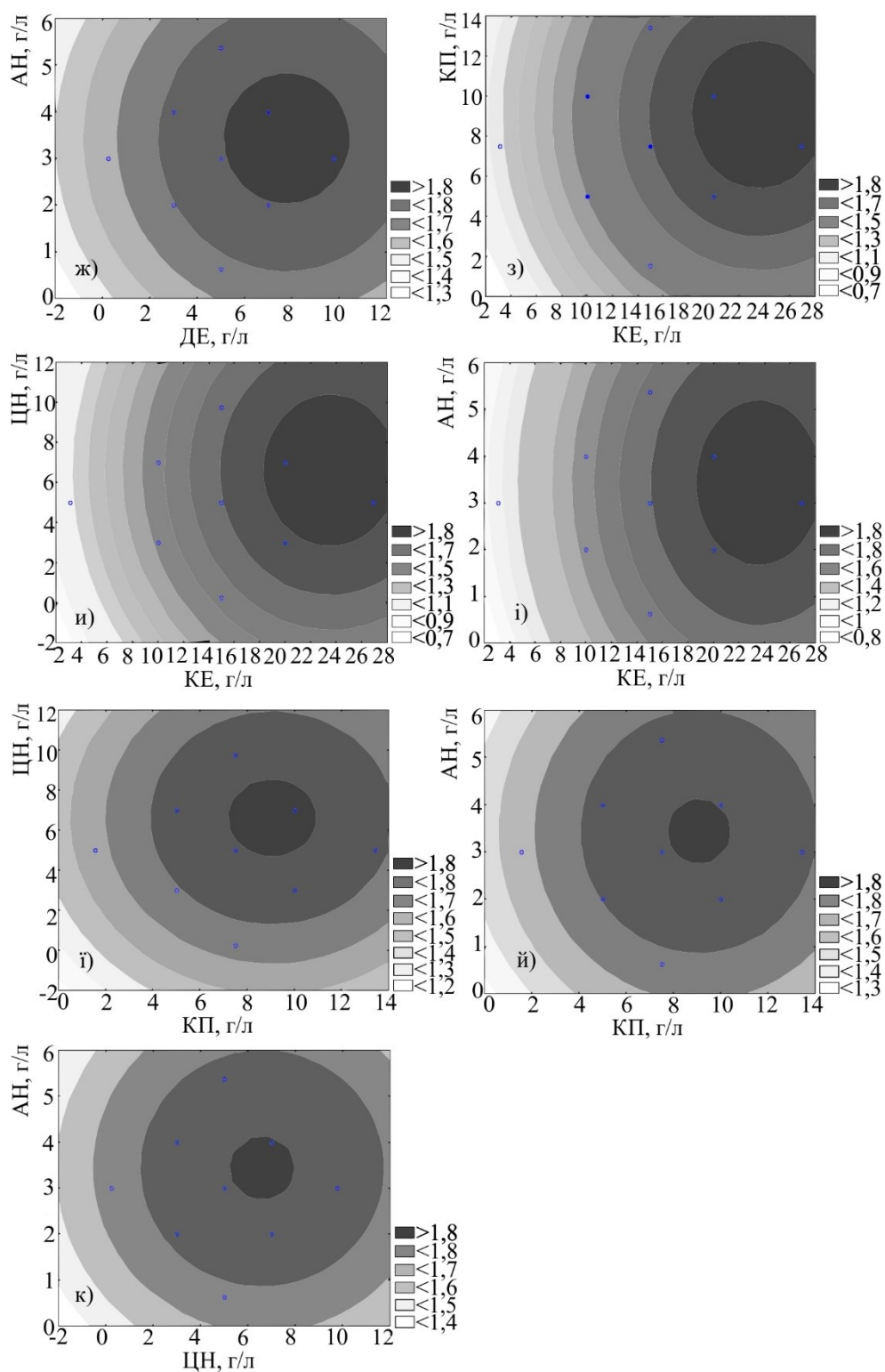
119. Даниленко С. Г. Зберігання культур молочнокислих мікроорганізмів. *Наукові праці Національного університету харчових технологій*. 2015, 21(1): 28-32.

120. Yeo S., Shin H. S., Lee H. W., Hong D., Park H., Holzapfel W., Kim E. B., Huh C. S. Determination of optimized growth medium and cryoprotective additives to enhance the growth and survival of *Lactobacillus salivarius*. *Journal of microbiology and biotechnology*. 2018, 28(5): 718-731. doi: 10.4014/jmb.1801.01059.

121. Stefanello R. F., Nabeshima E. H., Iamanaka B. T., Ludwig A., Fries L. L. M., Bernardi A. O., Copetti M. V. Survival and stability of *Lactobacillus fermentum* and *Wickerhamomyces anomalus* strains upon lyophilisation with different cryoprotectant agents. *Food Research International*. 2019, 115: 90-94. doi: 10.1016/j.foodres.2018.07.044.
122. Скородумова, А. М. Практическое руководство по технической микробиологии молока и молочных продуктов. Пищепромиздат. 1963. 300 с.
123. ДСТУ 7643:2014. Корми для тварин. Методи визначання аміачного азоту і активної кислотності (pH).
124. Костенко В. М., Панько В. В., Сироватко К. М. Практикум з годівлі сільськогосподарських тварин. Частина I “Хімічний склад , оцінка поживності та якості кормів”. Вінниця: РВВ ВДАУ, 2008.141 с.
125. Великая Е. И., Суходол В. Ф. Лабораторный практикум по курсу общей технологии бродильных производств (общие методы контроля). 2-е изд., перераб. и доп. М.: Легкая и пищевая пром-сть, 1983. 312 с.
126. ДСТУ 8564:2015 Корми для тварин, сировина для виготовлення повнораціонних сумішей, виділення тварин. Методи визначання вмісту органічних кислот.
127. ДСТУ 7169:2010. Корми, комбікорми, комбікормова сировина. Методи визначання вмісту азоту і сирого протеїну.
128. Palles T., Beresford T., Condon S., Cogan T. M. Citrate metabolism in *Lactobacillus casei* and *Lactobacillus plantarum*. *Journal of Applied Microbiology*. 1998, 85(1): 147-154. doi: 10.1046/j.1365-2672.1998.00486.x.



Проекція поверхні відгуку оптичної густини (D, од) від концентрації компонентів поживного середовища (г/л): а) дріжджового екстракту та глюкози; б) кукурудзяного екстракту та глюкози; в) казеїнового пептону та глюкози; г) цитрату натрію та глюкози; г) ацетату натрію та глюкози; д) кукурудзяного екстракту та дріжджового екстракту, е) казеїнового пептону та дріжджового екстракту; е) цитрату натрію та дріжджового екстракту



Проекція поверхні відгуку оптичної густини (D, од) від концентрації компонентів поживного середовища (г/л): ж) ацетату натрію та дріжджового екстракту; з) казеїнового пептону та кукурудзяного екстракту; и) цитрату натрію та кукурудзяного екстракту; і) ацетату натрію та кукурудзяного екстракту; ї) цитрату натрію та казеїнового пептону; й) ацетату натрію та казеїнового пептону; к) ацетату натрію та цитрату натрію

АПРОБАЦІЯ РОБОТИ

Статті у фахових виданнях:

1. Даниленко С. Г., Хоньків М. О., Іскра К. О. Лактобактерії для силосування рослинної сировини. *Аграрна наука та харчові технології*. 2019, 5(108) т.1 : 3-12.
2. Грушковська А. О., Даниленко С. Г., Крижська Т. А., Хоньків М. О. Вплив молочнокислих бактерій на показники житньої закваски. *Вчені записки Таврійського національного університету імені В. І. Вернадського*. 2019, 30(69): 92-97. doi: 10.32838/2663-5941/2019.4-2/15.
3. Хоньків М. О., Даниленко С. Г., Тетеріна С. М. Наукове обґрунтування нових технологічних прийомів створення біопрепаратів для заготівлі силосованих кормів. *Продовольчі ресурси*. 2020, 14: 67-79. doi: 10.31073/foodresources2019-14-08.
4. Хоньків М. О., Даниленко С. Г., Тетеріна С. М., Потемська О. І. Використання багатокритеріальної оптимізації поживного середовища для накопичення біомаси молочнокислих бактерій. *Наукові праці НУХТ*. 2020, 26(4): 47-57. doi: 10.24263/2225-2924-2020-26-4-7.

Тези у збірниках міжнародних конференцій:

1. Даниленко С. Г., Грушковська А. О., Хоньків М. О. Відбір лактобактерій для закваски з житнього та пшеничного борошна. Матеріали VIII Міжнародної спеціалізованої науково-практичної конференції «Ресурсо- та енергоощадні технології виробництва і пакування харчової продукції - основні засади її конкурентоздатності» (Київ, Україна, 12 вересня 2019 р.) – С.43-44.
2. Хоньків М. О., Іскра К. О., Даниленко С. Г. Лактобацили для силосування рослинної сировини. Програма та тези матеріалів VIII Міжнародної науково-технічної конференції «Наукові проблеми харчових технологій та промислової біотехнології в контексті євроінтеграції» (Київ, Україна, 5-6 листопада 2019 р.) – С.37-38.

3. *Каташов С. О., Хоньків М. О., Даниленко С. Г., Ніжельська О. І., Мариненко Л. В.* Сорбція пробіотичних культур ентросорбентами на основі високодисперсного кремнезему. Збірник наукових праць за матеріалами VII Міжнародної науково-практичної конференції «Інноваційний розвиток харчової індустрії». (Київ, Україна, 21 листопада 2019 р.) – С.39-41.

4. *Хоньків М. О., Даниленко С. Г.* Фізіологічні особливості штамів *Lactobacillus buchneri* виділених з спонтанної мікробіоти силосу. Збірник наукових праць за матеріалами VII Міжнародної науково-практичної конференції «Інноваційний розвиток харчової індустрії». (Київ, Україна, 21 листопада 2019 р.) – С.84-85.

5. *Хоньків М. О., Даниленко С. Г., Тетеріна С. М.* Антагоністична активність штамів *Lactobacillus*, перспективних для силосування рослинної сировини. Матеріали 86-ї Міжнародної наукової конференції молодих учених, аспірантів і студентів «Наукові здобутки молоді - вирішенню проблем харчування людства у XXI столітті» (Київ, Україна, 2-3 квітня 2020 р.) – С.408.

6. *Хоньків М. А., Даниленко С. Г.* Выделение и отбор молочнокислых бактерий–компонентов закваски для силосования растительного сырья. Материалы конференции «Современные проблемы генетики, геномики и биотехнологии». (12 серпня 2020 р. м. Ташкент) – С. 278-280.

7. *Хоньків М. О., Даниленко С. Г., Тетеріна С. М.* Використання багатокритеріальної оптимізації поживного середовища для накопичення біомаси молочнокислих бактерій. IX Міжнародна науково-технічна конференція «Наукові проблеми харчових технологій та промислової біотехнології в контексті Євроінтеграції» (10-11 листопада 2020 р., м. Київ, НУХТ) – С. 33-34. (виступ з доповіддю).

Тези у збірниках Всеукраїнських конференцій:

1. *Хоньків М. О., Даниленко С. Г., Півець Л. В.* Оптимізація складу поживного середовища для промислового виробництва силосної закваски. XIV Всеукраїнська науково-практичної конференції «Біотехнологія XXI

століття» присвяченої 135-річчю від дня народження Олександра Володимировича Палладіна (Київ, Україна, 20 травня 2020 р.) – С. 89.

2. *Хоньків М. О., Даниленко С. Г., Потемська О. І.* Зберігання мікробіоти кефірного грибка методом заморожування. XIV Всеукраїнська науково-практичної конференції «Біотехнологія XXI століття» присвяченої 135-річчю від дня народження Олександра Володимировича Палладіна (Київ, Україна, 20 травня 2020 р.) – С. 90.



2020

НАУКОВІ ПРАЦІ

НАЦІОНАЛЬНОГО УНІВЕРСИТЕТУ ХАРЧОВИХ ТЕХНОЛОГІЙ

Том 26 № 4

*Журнал
«Наукові праці Національного університету харчових технологій»
видається з 1938 року*

КИЇВ ✦ НУХТ ✦ 2020

ЗМІСТ

Автоматизація та інформаційні технології

Роговик А. В., Ельперін І. В., Заєць Н. А. Концептуальний опис електротехнологічного комплексу цукрового заводу

Ладанюк А. П., Власенко Л. О., Луцька Н. М., Смітюх Я. В., Бойко Р. О. Автоматизовані технологічні комплекси: сучасні методи, задачі аналізу та синтезу. Частина 2. Приклади реалізації і проблема технологічних ризиків

Бокоч І. В., Трегуб В. Г., Клименко О. М. Логічна модель періодичних процесів в утфельних вакуум-апаратах з двоетапною кристалізацією

Біотехнології

Вороненко А. А., Ярош М. Б., Пирог Т. П. Біоконверсія відпрацьованої олії в мікробний екзополісахарид етаполан для природоохоронних технологій

Хонків М. О., Тетеріна С. М., Даниленко С. Г., Потемська О. І. Використання багатокритеріальної оптимізації поживного середовища для накопичення біомаси молочнокислих бактерій

Економіка, менеджмент і маркетинг

Скопенко Н. С., Євсєєва-Северина І. В. Застосування сучасних інформаційних систем і технологій в управлінні з метою підвищення конкурентоспроможності підприємств

Роганова Г. О., Щербаківа К. В. Оцінка ліквідності та платоспроможності підприємства кондитерської промисловості

Механічна та електрична інженерія

Долінський А. А., Малецька К. Д., Авдєєва Л. Ю., Гартвіг А. П., Макаренко А. А. Перспективи використання сучасних вітчизняних розпилювальних сушарок для переробки продукції агропромислового комплексу

Мирончук В. Г., Змієвський Ю. Г., Захаров В. В., Корнієнко Л. В. Методика визначення достовірності ймовірно-статистичної моделі розрахунку процесу озонування

Соколенко А. І., Шевченко О. Ю., Костюк В. С., Літвинчук С. І. Системи утилізації вторинної пари сушварильних апаратів

Рябчук О. М., Мирошник М. М., Бойко В. О., Грищенко Р. В., Павліченко В. А. Способи регулювання холодопродуктивності станцій з поршневіми компресорами

Шестеренко В. Є., Изволєнський І. Є., Мащенко О. А. Аналіз рівня вищих гармонік у системі електропостачання цукрових заводів

CONTENTS

Automation and Information Technologies

7 *Rohovyk A., Elperin I., Zaiets N.* Conceptual description of the electrotechnological complex of the sugar plant

15 *Ladanyuk A., Vlasenko L., Lutska N., Smityuh Y., Boyko R.* Automated technological complexes: modern methods and problems of analysis and synthesis. Part 2. Examples of implementation and the problem of technological risks

23 *Bokoch I., Tregub V., Klumenko O.* Logical model of periodic processes in masecuite vacuum devices with two-stage crystallization

Biotechnology

37 *Voronenko A., Yarosh M., Pirog T.* Bioconversion of waste oil to microbial exopolysaccharide ethapolan for environmental technologies

47 *Khonkiv M., Teterina S., Danylenko S., Potemskaya O.* Use of multicriterial optimization of the growth medium for accumulation of biomass of lactic acid bacteria

Economy, Management and Marketing

58 *Skopenko N., Yevsieieva-Severyna I.* Modern information systems and technologies implementation in management for increasing competitiveness of enterprises

71 *Rohanova H., Shcherbakova K.* Assessment of liquidity and solvency of the plant of confectionery industry

Mechanical and Electrical Engineering

81 *Dolinskyi A., Maletska K., Avdieieva L., Hartviih A., Makarenko A.* Prospects of using modern domestic spray dryers for processing of agro-industrial complex products

90 *Myronchuk V., Zmievskii Yu., Zakharov V., Kornienko L.* Method for determining the reliability of the probabilistic-statistical model for calculating the ozonation process

98 *Sokolenko A., Shevchenko O., Kostyuk V., Litvynchuk S.* Systems of utilization of secondary steam of apparatus for beer wort

113 *Riabchuk O., Miroshnyk M., Boiko V., Gryshchenko R., Pavlichenko V.* The methods of cooling capacity regulation of stations with reciprocating compressors

130 *Shesterenko V., Izvolenskiy I., Mashchenko O.* Analysis of the level of higher harmonics in the sugar supply system

USE OF MULTICRITERIAL OPTIMIZATION OF THE GROWTH MEDIUM FOR ACCUMULATION OF BIOMASS OF LACTIC ACID BACTERIA

M. Khonkiv, S. Teterina

National University of Food Technologies

S. Danylenko, O. Potemka

Institute of Food Resources of NAAS

Key words:

*Multicriterial optimization
Growth medium
Bacterial composition
Response surface methodology
Lactic acid bacteria*

Article history:

Received 08.07.2020
Received in revised form
22.07.2020
Accepted 05.08.2020

Corresponding author:

M. Khonkiv

E-mail:

myroslavh85@gmail.com

ABSTRACT

The most important stage in the production of bacterial preparations based on lactic acid bacteria is to obtain the maximum yield of biomass in the minimum cultivation time. Cultivation of lactic acid bacteria is complicated by the nutritional needs of these microorganisms. For these bacteria requires a nutrient medium growth factors — amino acids, vitamins, minerals and others. Therefore, the issue of optimizing the conditions for culturing bacteria is relevant. The aim of this study was to establish the composition of the nutrient medium for growing the bacterial composition *Lactobacillus buchneri* 3806, *L. plantarum* 3796, *Enterococcus faecium* C-8-12. A commonly used medium for growing bacterial compositions based on lactic acid bacteria is MRS medium (Mann, Rogoza, Sharpe), which contains all the essential nutrients and growth factors for their development. In industrial conditions, the use of this medium is impractical due to its high cost. To optimize the composition of the nutrient medium the method rotatable central composition planning (RCKP) was used, that allowed to parse the growth of lactic acid bacteria according to six selected factors, such as concentration of glucose, corn and yeast extracts, peptone, acetate and sodium citrate. The optical density of the culture fluid was chosen as the criterion of optimality.

As a result, the nutrient medium of the following composition was optimized, g/l: base (protosubtilin-hydrolyzed milk with the addition of the following salts: monosubstituted potassium phosphate — 2 g/l; manganese sulfate 5-aqueous — 0.05 g/l; magnesium sulfate 7-aqueous — 0.2 g/l, twin-80 — 1.0); glucose — 19.7; yeast extract — 7.8; corn extract — 23.6; peptone — 9.1; sodium citrate — 6.6; and sodium acetate — 3.4. Increasing the bacterial composition allowed to obtain the maximum yield of biomass where the optical density was 2.01 units, which is almost twice the value obtained by culturing the same composition in MRS medium. The optimized medium is recommended for culturing the bacterial composition under industrial conditions.

DOI: 10.24263/2225-2924-2020-26-4-7

ВИКОРИСТАННЯ БАГАТОКРИТЕРІАЛЬНОЇ ОПТИМІЗАЦІЇ ПОЖИВНОГО СЕРЕДОВИЩА ДЛЯ НАКОПИЧЕННЯ БІОМАСИ МОЛОЧНОКИСЛИХ БАКТЕРІЙ

М. О. Хоньків, С. М. Тетеріна

Національний університет харчових технологій

С. Г. Даниленко, О. І. Потемська

Інститут продовольчих ресурсів НААН України

Найважливішою стадією у виробництві бактеріальних препаратів на основі молочнокислих бактерій є отримання максимального виходу біомаси за мінімальний термін культивування. Культивування молочнокислих бактерій ускладнено особливостями поживних потреб цих мікроорганізмів. Для цих бактерій необхідна наявність у поживному середовищі факторів росту — амінокислот, вітамінів, мікроелементів тощо, тому питання оптимізації умов культивування бактерій є актуальним.

У статті проведено оптимізацію складу поживного середовища для вирощування бактеріальної композиції *Lactobacillus. buchneri* 3806, *L. plantarum* 3796, *Enterococcus faecium* C-8-12. Загальноживаним середовищем для вирощування бактеріальних композицій на основі молочнокислих бактерій є середовище МРС (Ман, Рогоза, Шарп), яке містить усі необхідні для їхнього розвитку поживні речовини й фактори росту. В промислових умовах застосування такого середовища є недоцільним через його високу вартість. Для оптимізації складу поживного середовища використовували метод ротатбельного центральноконпозиційного планування, який дав змогу проаналізувати відгук росту молочнокислих бактерій залежно від концентрації глюкози, кукурудзяного і дріжджового екстрактів, пептону, ацетату та цитрату натрію. Критерієм оптимальності було обрано оптичну густину культуральної рідини.

У результаті оптимізовано поживне середовище такого складу, г/л: основа (гідролізоване протосубтиліно молоко з додаванням таких солей: калій фосфорнокислий однозаміщений — 2 г/л; марганець сірчанонокислий 5-водний — 0,05 г/л; магній сірчанонокислий 7-водний — 0,2 г/л, твін-80 — 1,0); глюкоза — 19,7; дріжджовий екстракт — 7,8; кукурудзяний екстракт — 23,6; пептон — 9,1; цитрат натрію — 6,6; ацетат натрію — 3,4. Нарощування бактеріальної композиції дало змогу отримати максимальний вихід біомаси, за якого показник оптичної густини становив 2,01 од., що практично вдвічі більше, ніж значення, яке було одержано при культивуванні тієї ж композиції в середовищі МРС. Оптимізоване середовище рекомендовано для культивування бактеріальної композиції в промислових умовах.

Ключові слова: багатокритеріальна оптимізація, середовище росту, бактеріальна композиція, методологія поверхні відгуку, молочнокислі бактерії.

Постановка проблеми. Важливим етапом біотехнології бактеріальних препаратів на основі молочнокислих бактерій є забезпечення оптимальних умов і режимів для процесу культивування. Одним із визначальних параметрів, який впливає на накопичення біомаси, є відповідність складу поживного середовища

ростовим потребам бактерій. Велика частина субстрату в клітинах молочнокислих бактерій витрачається на синтез органічних кислот, тому найчастіше ріст бактерій першочергово лімітується спорідненістю з ним і його концентрацією. Для зменшення часу адаптації бактеріальних культур, вилучених з природного середовища, до нових умов у ході силосування існує необхідність використання поживних середовищ, наближених за хімічним складом до сировини. Основними джерелами вуглецю в рослинній сировині, що є доступними для силосної мікробіоти, є водорозчинні вуглеводи в клітинному соку — глюкоза і фруктоза. Існує потреба в ростових факторах та азотному живленні для молочнокислих бактерій від штаму до штаму, тому для забезпечення цих цілей використовують гідролізати білків м'яса, лактоальбуміну, казеїну та різних видів борошна [1; 2]. Також як джерела амінокислот, поліпептидів і вітамінів використовують дріжджовий і кукурудзяний екстракти [3; 4]. Останній з них є дешевою альтернативою азотного живлення — містить 1,2—2,0% амінного азоту в концентраті, що додатково може містити від 0,1—1,1% цукрів, 5—11,5% молочної кислоти. Те саме стосується і вітамінів та амінокислот, які знаходяться переважно в дріжджовому екстракті та децю менше — в кукурудзяному.

При спільному культивуванні представників різних родів, видів і штамів молочнокислих бактерій необхідно враховувати всі особливості метаболізму кожної складової культури, що є дуже складним завданням. Щоб вирішити це завдання і підвищити результати до необхідної точності, раціонально використати математичні методи планування експерименту. Зокрема, є повідомлення, що за допомогою методу центрального композиційного плану було оптимізоване середовище для вирощування штаму *Lactobacillus paracasei subsp. Paracasei* В 4079 зі ступенем конверсії субстрату в біомасу і молочну кислоту — близько 100%. Оптимальні концентрації глюкози та інших джерел ростових факторів було визначено за найвищою зоною поверхні відгуку конверсії субстрату [4]. В іншому дослідженні для оцінки впливу компонентів поживного середовища перед використанням центрального композиційного плану використано метод Плакета-Бірмана, в результаті чого за допомогою такої гібридної методології на новому середовищі було накопичено біомаси штаму *L. rhamnosus* PEN на 1,9 г/л більше порівняно з концентрацією на МРС [5]. Більш складна оптимізація ферментаційного середовища для одержання екзополісахариду культурою *L. plantarum* наведена в праці індійських вчених [6], які застосували методи Плакета-Бірмана, штучних нейронних мереж і генетичних алгоритмів. Зокрема, такий підхід до оптимізації середовища підвищив вихід екзополісахариду на 4,45 г/л порівняно з вихідними характеристиками штаму. Серед інших ефективних підходів можна відмітити використання методів Бокса-Бенкена і масиву Тагуті, які характеризуються підвищенням виходу біомаси порівняно з початковим середовищем на 107%. Особливістю такого підходу є інтегрування двох методів на різних етапах оптимізації, тому збільшення біомаси досягається послідовним використанням методів [7].

У всіх проаналізованих експериментальних дослідженнях [4—7] використання методів математичного моделювання та статистичного аналізу надає можливість збільшити вихід кінцевого продукту порівняно з емпіричною методикою підбору індивідуальних середовищ, а також значно скоротити рівень затрачених ресурсів на досягнення бажаного результату.

Проте для застосування цих методів необхідно знайти модельні середовища, на основі яких здійснюється початковий пошук оптимального складу. Представники роду *Lactobacillus* не ростуть або ростуть дуже слабо на поживних середовищах з простими субстратами, тому в переважній більшості дослідники використовують багатокomпонентні середовища зі складними джерелами ростових факторів тваринного і рослинного походження [5; 10]. Так, загальноживаним є середовище Man, Rogosa, Sharpe [8] у вигляді MRS-бульйону. Це середовище універсальне як для лабораторних, так і для великомасштабного вирощування лактобацил, лактококів, педіококів, ентерококів через достатнє забезпечення ростових потреб [9]. Проте, попри підвищення ростових характеристик, це середовище модифікують під індивідуальні фізіологічні потреби конкретних біологічних агентів. Окрім того, середовище є доволі дороговартісним, а кожен виробник зацікавлений у зменшенні витрат за рахунок зниження концентрації поживних речовин до необхідного мінімуму або ж за рахунок використання дешевших альтернатив [10].

Метою дослідження є підбір та оптимізація складу середовища для виробництва бактеріальної композиції молочнокислих бактерій методом ротатабельного центрально-композиційного плану.

Матеріали і методи. Об'єктами досліджень були два штами *L. buchneri* 3806 та *L. plantarum* 3796, ізольовані із силосу кукурудзи, та один штаб *Enterococcus faecium* C-8-12, ізольований з фекалій кролика. Культури молочнокислих бактерій підтримували на середовищі MRS, між пересівами зберігали у відділі біотехнології Інституту продовольчих ресурсів НААН України за температури $(4 \pm 2)^\circ\text{C}$.

Для постановки дослідження з пошуку оптимального середовища використано методологію математичного планування експерименту. Для скорочення кількості дослідів для 6 факторів застосовано ротатабельний центрально-композиційний план. Критерієм оптимальності обрано оптичну густину культуральної рідини, що характеризує приріст біомаси.

Експериментальні дані одержували згідно із згенерованою матрицею дослідів. Кількість дослідів генерувалася за формулою (1) для центрального композиційного плану:

$$N = 2^{n-1} + 2n + N_0 \leq 3^n, \quad (1)$$

де 2^{n-1} — ядро плану експерименту; $2n$ — зіркові точки; N_0 — точки у центрі плану, n — кількість факторів.

Планування експерименту та обробка даних здійснювалася за допомогою програмного середовища для статистичного аналізу STATISTICA 12. У ході обробки результатів враховувалися коефіцієнти рівняння полінома регресії та їх дисперсії. Перевірка адекватності одержаного відгуку здійснювалася за критерієм Фішера. Значення експериментальних даних, а також коефіцієнтів регресії вважалися статистично значимими, якщо $p \leq 0,05$.

Було досліджено 46 варіантів поживних середовищ, до яких вносили глюкозу (Гл) і кукурудзяний екстракт (КЕ) у кількості 10—20 г/л, казеїновий пептон (КП) — 5—10 г/л, дріжджовий екстракт (ДЕ) — 3—7 г/л, ацетат натрію (АН) — 2—4 г/л та цитрат натрію (ЦН) — 3—7 г/л.

Як основу середовища для накопичення біомаси мікроорганізмів використовували рідке поживне середовище гідролізованого протосубтиліном молока з

додаванням таких солей: калій фосфорнокислий однозаміщений — 2 г/л; марганець сірчаноокислий 5-водний — 0,05 г/л; магній сірчаноокислий 7-водний — 0,2 г/л, твін-80 — 1,0 мл/л. Контролем слугувало середовище МРС.

Культивування мікроорганізмів вели в періодичному режимі зі стабілізацією рН культуральної рідини в діапазоні 6,0—6,5 од. впродовж 14 год за оптимальної температури (36±1)°С.

Інтенсивність розвитку культур у досліджуваних середовищах оцінювали за рівнем накопичення біомаси спектрофотометричним методом на спектрофотометрі Unicо S 2100 (при довжині хвилі — 590 нм).

Результати і обговорення. Як фактор оптимізації було обрано 6 компонентів, за зміни яких могло б забезпечуватися збільшення рівня накопичення біомаси бактерій. Як джерело вуглецю було обрано глюкозу, що входить до складу середовища МРС і є основним вуглеводом клітинного соку кукурудзи. Як головне джерело азотного живлення, замість м'ясного екстракту, використовували концентрований кукурудзяний екстракт. Діапазони концентрацій для глюкози й кукурудзяного екстракту обрані на рівні 10—20 г/л. Для забезпечення всіх потреб метаболізму молочнокислих бактерій серед інших джерел азотного живлення та ростових факторів середовище доповнювали казеїновим пептоном у діапазоні концентрацій — 5—10 г/л та дріжджовим екстрактом — 3—7 г/л. Окрім того, використано ацетат і цитрат натрію в діапазонах концентрацій 2—4 г/л та 3—7 г/л відповідно. Відомо, що ацетати є інгібіторами для багатьох сторонніх мікроорганізмів, тоді як цитрати [11] — резервним джерелом енергії для молочнокислих бактерій. Ріст біомаси клітин оцінювали за оптичною густиною (D) культуральної рідини. Для одержання інформації про відгук оптичної густини залежно від концентрації складових поживного середовища обрано тривірневий центральний композиційний план експериментів. Для 6 факторів необхідно було одержати результати в 46 дослідях, варіанти комбінування яких наведені в табл. 1.

Таблиця 1. Матриця експериментальних даних для поверхні відгуку

№	Значення змінних факторів						Відгук Y
	X ₁	X ₂	X ₃	X ₄	X ₅	X ₆	
	2	3	4	5	6	7	8
1	10,00	3,00	10,00	5,00	3,00	2,00	1,09
2	10,00	3,00	10,00	5,00	7,00	4,00	1,12
3	10,00	3,00	10,00	10,00	3,00	4,00	1,19
4	10,00	3,00	10,00	10,00	7,00	2,00	1,21
5	10,00	3,00	20,00	5,00	3,00	4,00	1,54
6	10,00	3,00	20,00	5,00	7,00	2,00	1,58
7	10,00	3,00	20,00	10,00	3,00	2,00	1,60
8	10,00	3,00	20,00	10,00	7,00	4,00	1,62
9	10,00	7,00	10,00	5,00	3,00	4,00	1,28
10	10,00	7,00	10,00	5,00	7,00	2,00	1,30
11	10,00	7,00	10,00	10,00	3,00	2,00	1,32
12	10,00	7,00	10,00	10,00	7,00	4,00	1,36
13	10,00	7,00	20,00	5,00	3,00	2,00	1,66
14	10,00	7,00	20,00	5,00	7,00	4,00	1,69
15	10,00	7,00	20,00	10,00	3,00	4,00	1,70
16	10,00	7,00	20,00	10,00	7,00	2,00	1,73
17	20,00	3,00	10,00	5,00	3,00	4,00	1,45
18	20,00	3,00	10,00	5,00	7,00	2,00	1,47

1	2	3	4	5	6	7	8
19	20,00	3,00	10,00	10,00	3,00	2,00	1,49
20	20,00	3,00	10,00	10,00	7,00	4,00	1,52
21	20,00	3,00	20,00	5,00	3,00	2,00	1,78
22	20,00	3,00	20,00	5,00	7,00	4,00	1,84
23	20,00	3,00	20,00	10,00	3,00	4,00	1,82
24	20,00	3,00	20,00	10,00	7,00	2,00	1,88
25	20,00	7,00	10,00	5,00	3,00	2,00	1,59
26	20,00	7,00	10,00	5,00	7,00	4,00	1,61
27	20,00	7,00	10,00	10,00	3,00	4,00	1,64
28	20,00	7,00	10,00	10,00	7,00	2,00	1,67
29	20,00	7,00	20,00	5,00	3,00	4,00	1,91
30	20,00	7,00	20,00	5,00	7,00	2,00	1,93
31	20,00	7,00	20,00	10,00	3,00	2,00	1,92
32	20,00	7,00	20,00	10,00	7,00	4,00	1,92
33	3,11	5,00	15,00	7,50	5,00	3,00	0,95
34	26,89	5,00	15,00	7,50	5,00	3,00	1,80
35	15,00	0,24	15,00	7,50	5,00	3,00	1,69
36	15,00	9,76	15,00	7,50	5,00	3,00	1,75
37	15,00	5,00	3,11	7,50	5,00	3,00	1,11
38	15,00	5,00	26,89	7,50	5,00	3,00	1,94
39	15,00	5,00	15,00	1,55	5,00	3,00	1,52
40	15,00	5,00	15,00	13,45	5,00	3,00	1,82
41	15,00	5,00	15,00	7,50	0,24	3,00	1,59
42	15,00	5,00	15,00	7,50	9,76	3,00	1,87
43	15,00	5,00	15,00	7,50	5,00	0,62	1,60
44	15,00	5,00	15,00	7,50	5,00	5,38	1,86
45	15,00	5,00	15,00	7,50	5,00	3,00	1,78
46	15,00	5,00	15,00	7,50	5,00	3,00	1,79

Примітка: фактори: X_1 — концентрація глюкози; X_2 — концентрація дріжджового екстракту; X_3 — концентрація кукурудзяного екстракту; X_4 — концентрація казеїнового пептону; X_5 — концентрація цитрату натрію; X_6 — концентрація ацетату натрію. Зазначені значення концентрації компонентів вимірюються в грамах на літр середовища (г/л). Відгук: Y — значення оптичної густини.

Згідно з експериментальними значеннями оптичної густини, одержаними при культивуванні бактеріальної композиції, як математичну модель було обрано поліном регресії другого порядку (2):

$$Y = \beta_0 + \sum_{i=1}^6 \beta_i X_i + \sum_{j=1}^6 \beta_{jj} X_j^2. \quad (2)$$

Перевірку адекватності впливу кожного фактора здійснювали з використанням дисперсійного аналізу. Значення критеріїв оцінки дисперсії одержаних результатів по кожному фактору наведені в табл. 2. Усі досліджені компоненти в їхніх діапазонах концентрацій є статистично значимими для впливу на оптичну густину, адже виконується умова $p < 0,05$.

Коефіцієнт детермінації, визначений для моделі, становить $R^2 = 0,96$, що свідчить про досить близьке наближення відгуку критерію оптимальності його реальним значенням. Саме тому запропоноване рівняння регресії є придатним для застосування в подальшій оптимізації.

BIOTECHNOLOGI

Таблиця 2. Показники дисперсійного аналізу

№	Фактор		Критерії дисперсії				
			SS*	df*	MS*	F*	p*
1	Глюкоза	Л**	0,966952	1	0,966952	19339,04	0,004578
		К**	0,224623	1	0,224623	4492,45	0,009497
2	Дріжджовий екстракт	Л**	0,108987	1	0,108987	2179,75	0,013634
		К**	0,011667	1	0,011667	233,34	0,041616
3	Кукурудзяний екстракт	Л**	1,398910	1	1,398910	27978,19	0,003806
		К**	0,099127	1	0,099127	1982,54	0,014295
4	Казеїновий пептон	Л**	0,049451	1	0,049451	989,02	0,020236
		К**	0,025936	1	0,025936	518,73	0,027934
5	Цитрат натрію	Л**	0,029792	1	0,029792	595,84	0,026066
		К**	0,009488	1	0,009488	189,77	0,046133
6	Ацетат натрію	Л**	0,008545	1	0,008545	170,91	0,048602
		К**	0,009488	1	0,009488	189,77	0,046133
Відсутність придатності			0,129847	32	0,004058	81,15	0,087695
Чиста помилка			0,000050	1	0,000050		
Загальна сума квадратів (SS)			2,985783	45			

Примітка: * — показники дисперсії; SS — сума квадратів; df — ступені свободи; MS — середня сума квадратів; F — критерій Фішера; p — статистична значимість. ** — тип залежності: Л — лінійна, К — квадратична.

Коефіцієнти регресії, одержані для побудови поверхонь відгуку критерію оптимальності (D), наведені в табл. 3. Аналіз показує відповідність коефіцієнтів для заданої довірчої ймовірності $p = 95\%$.

Таблиця 3. Коефіцієнти регресії та їхня статистична значимість

Фактор	Компонент		Коефіцієнти регресії (β_i)	Чиста помилка	Критерій Стьюдента (t)	p
	Вільний коефіцієнт	β_0	-1,31229	0,037679	-34,8278	0,018274
X_1	Глюкоза	Л	0,12467	0,001430	87,1557	0,007304
		К	-0,00316	0,000047	-67,0258	0,009497
X_2	Дріжджовий екстракт	Л	0,07009	0,002995	23,4026	0,027186
		К	-0,00450	0,000295	-15,2756	0,041616
X_3	Кукурудзяний екстракт	Л	0,09891	0,001430	69,1475	0,009206
		К	-0,00210	0,000047	-44,5257	0,014295
X_4	Казеїновий пептон	Л	0,07793	0,002861	27,2414	0,023359
		К	-0,00429	0,000189	-22,7756	0,027934
X_5	Цитрат натрію	Л	0,05370	0,002995	17,9307	0,035468
		К	-0,00406	0,000295	-13,7756	0,046133
X_6	Ацетат натрію	Л	0,11145	0,007152	15,5831	0,040797
		К	-0,01623	0,001179	-13,7756	0,046133

Отже, загальне рівняння регресії з обрахованими коефіцієнтами має такий вигляд (3):

$$\begin{aligned}
 Y = & -1,31229 + 0,12467X_1 + 0,7009X_2 + 0,09891X_3 + 0,07793X_4 + \\
 & + 0,05370X_5 + 0,11145X_6 - 0,00316X_1^2 - 0,00450X_2^2 - 0,00210X_3^2 - \\
 & - 0,0042X_4^2 - 0,00406X_5^2 - 0,01623X_6^2.
 \end{aligned}
 \tag{3}$$

БІОТЕХНОЛОГІЇ

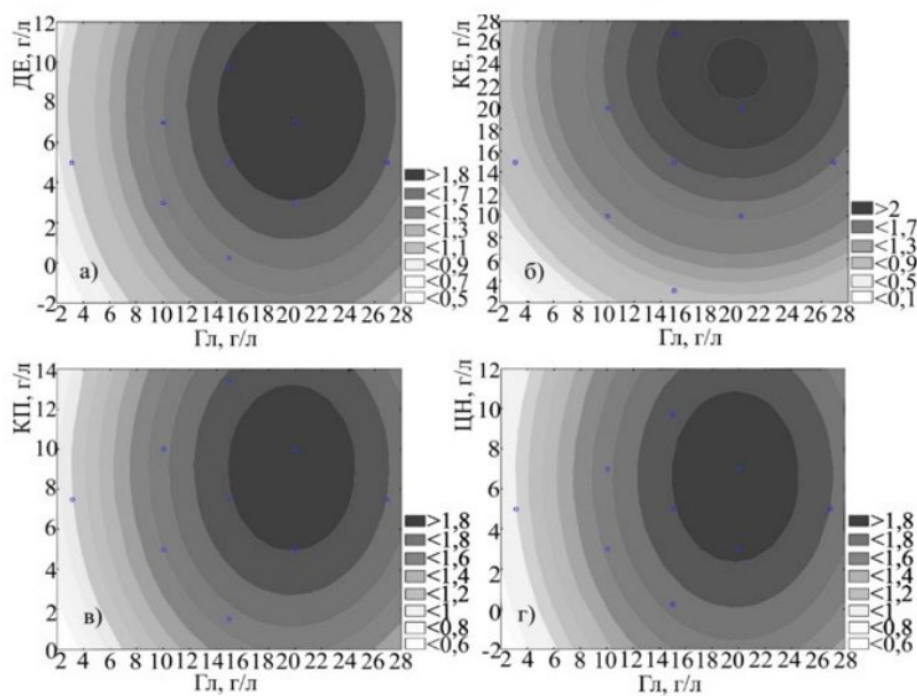
Поверхні відгуку являють собою тривимірну модель, тому для шести факторів було побудовано одразу 15 поверхонь відгуку, для яких приймали 2 змінних фактори при значенні константи для 4 інших. Проекції поверхонь відгуку оптичної густини наведено на рис. 1, 2.

Для встановлення значень концентрації аналізованих компонентів, за яких оптична густина буде мати максимальне значення, було знайдено екстремум функції відгуку в точці максимуму. Для вирішення цієї задачі розрахунки здійснено за допомогою програми STATISTICA 12 на основі побудованих поверхонь відгуку, результати яких наведено в табл. 4.

За розрахованих оптимальних концентрацій компонентів поживного середовища теоретичний показник оптичної густини досягає значення $D = 2,08$.

Таблиця 4. Критичні точки концентрацій компонентів у середовищі

Фактор	Концентрація компонента в середовищі		
	Мінімальні досліджені	Максимальні досліджені	Оптимальні концентрації
Глюкоза	3,11	26,89	19,73
Дріжджовий екстракт	0,24	9,76	7,79
Кукурудзяний екстракт	3,11	26,89	23,56
Пептон	1,55	13,45	9,07
Цитрат натрію	0,24	9,76	6,62
Ацетат натрію	0,62	5,38	3,43
Теоретичний D_{max}			2,08



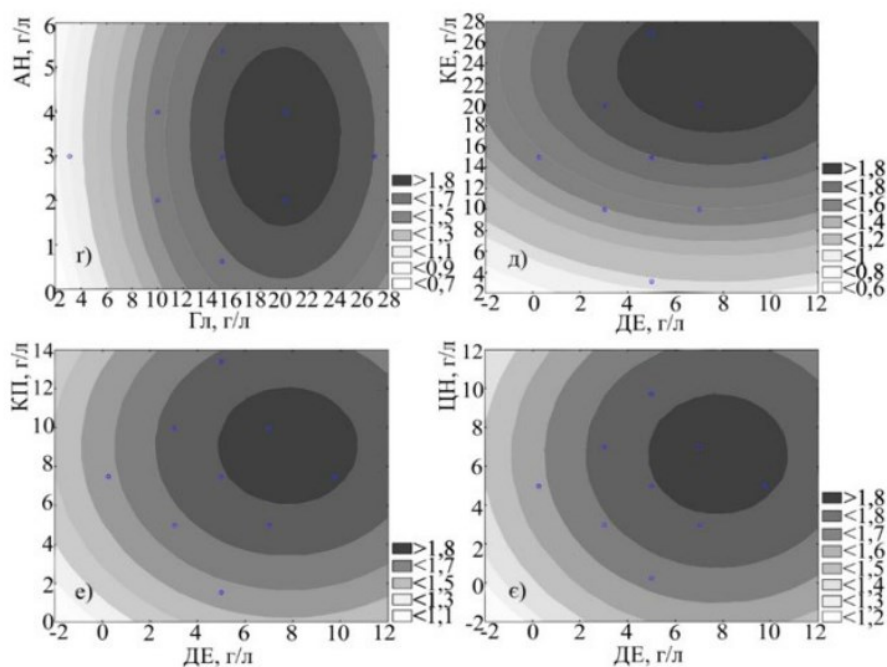
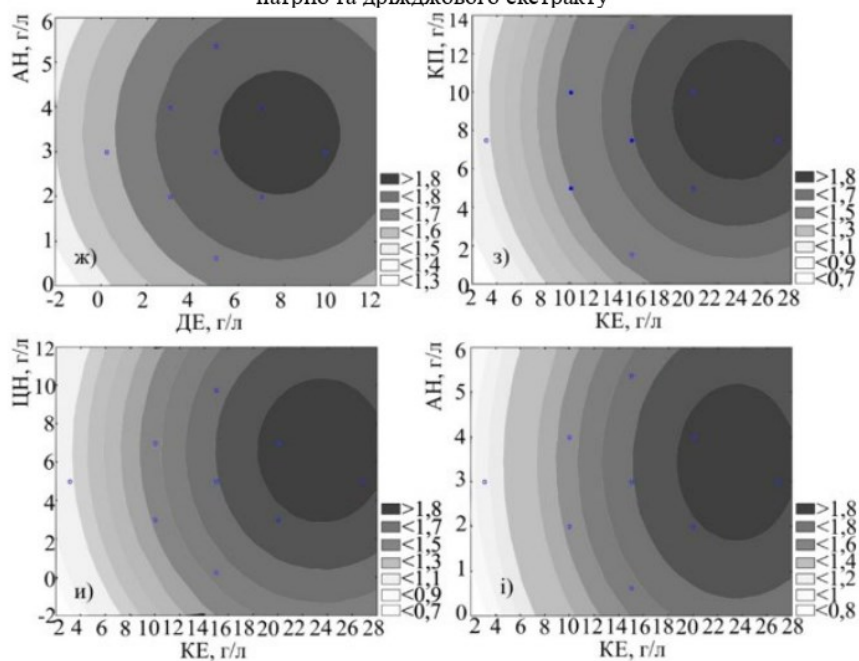


Рис. 1. Проекція поверхні відгуку оптичної густини (D , од) від концентрації компонентів поживного середовища (г/л): а) дріжджового екстракту та глюкози; б) кукурудзяного екстракту та глюкози; в) казеїнового пептону та глюкози; г) цитрату натрію та глюкози; д) ацетату натрію та глюкози; е) кукурудзяного екстракту та дріжджового екстракту; е) цитрату натрію та дріжджового екстракту



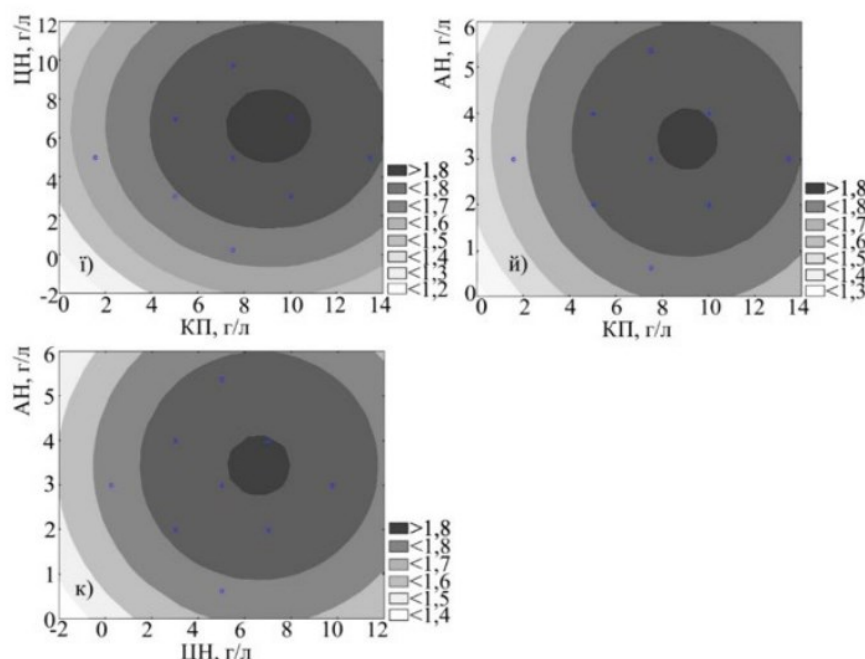


Рис. 2. Проекція поверхні відгуку оптичної густини (D , од) від концентрації компонентів поживного середовища (г/л): ж) ацетату натрію та дріжджового екстракту; з) казеїнового пептону та кукурудзяного екстракту; и) цитрату натрію та кукурудзяного екстракту; і) ацетату натрію та кукурудзяного екстракту; і) цитрату натрію та казеїнового пептону; й) ацетату натрію та казеїнового пептону; к) ацетату натрію та цитрату натрію

Для перевірки теоретично одержаних результатів було проведено культивування бактеріальної композиції протягом 14 год за 37°C . До основи середовища додавали такі компоненти, г/л: глюкоза — 19,7; дріжджовий екстракт — 7,8; кукурудзяний екстракт — 23,6; казеїновий пептон — 9,1; цитрат натрію — 6,6; ацетат натрію — 3,4. Для контролю бактеріальну композицію культивували в МРС. У результаті перевірки значення оптичної густини для трьох реплік оптимізованого середовища одержане значення становило $2,01 \pm 0,01$, тоді як для середовища МРС значення оптичної густини було на рівні $1,08 \pm 0,02$.

Висновки

Для забезпечення ростових потреб триштамової бактеріальної композиції, до складу якої входять — *L. buchneri* 3806, *E. faecium* C-8-12 та *L. plantarum* 3796, теоретично розраховано й експериментально підтверджено склад поживного середовища для максимального накопичення біомаси, що може використовуватися як альтернатива для загально визнаного середовища МРС. Доведено, що в середовищі з оптимальними концентраціями компонентів можливе збільшення виходу біомаси бактерій майже вдвічі порівняно з МРС.

Використання ротатбельного центрально-композиційного плану дає змогу скоротити кількість дослідів та оптимізувати склад поживного середовища як для

монокультур, так і для їхніх композицій, що є перспективним при масштабуванні виробництва кінцевого продукту.

Література

1. Wegkamp A., Teusink B., De Vos W. M., Smid E. J. Development of a minimal growth medium for *Lactobacillus plantarum*. *Letters in applied microbiology*. 2010. Vol. 50, № 1. P. 57—64. doi: 10.1111/j.1472-765X.2009.02752.x.
2. Гизатова Н. В., Миронова И. В. Обоснование подбора видов микроорганизмов для обработки коллагенсодержащего сырья. *Инновационные технологии и технические средства для АПК: Материалы международной научно-практической конференции молодых ученых и специалистов*. 15-17 ноября, 2016, Воронеж, Российская Федерация. С. 149—152.
3. Кудряшов В. Л., Лукин Н. Д., Оверченко М. Б., Погоржельская Н. С., Постникова В. Е., Соколова Е. Н., Смирнова И. А., Фурсова Н. А. Ультраконцентрат кукурузного экстракта-перспективный компонент питательных сред: технология производства и перспектива использования. Материалы VII Международного научно-практического симпозиума «Перспективные ферментные препараты и биотехнологические процессы в технологиях продуктов питания и кормов». 09 апреля 2014, Москва, Российская Федерация. С. 379—385.
4. Дерунец А. С. Биологические основы совершенствования культивирования молочнокислых бактерий для разработки высокоэффективной технологии получения молочной кислоты. дис. ... канд. биол. наук: 03.01.06 / Российский химико-технологический университет им. Д. И. Менделеева. Москва, 2020. 185 с.
5. Polak-Berecka M., Waśko A., Kordowska-Wiater M., Podleśny M., Targoński, Z., Kubik-Komar A. Optimization of medium composition for enhancing growth of *Lactobacillus rhamnosus* PEN using response surface methodology. *Polish Journal of Microbiology*. 2010. Vol. 59, № 2. P. 113—118. doi: 10.33073/pjm-2010-017.
6. Desai K. M., Akolkar S. K., Badhe Y. P., Tambe S. S., Lele S. S. Optimization of fermentation media for exopolysaccharide production from *Lactobacillus plantarum* using artificial intelligence-based techniques. *Process Biochemistry*. 2006. Vol. 41, № 8. P. 1842—1848. doi: 10.1016/j.procbio.2006.03.037.
7. Hwang C. F., Chang J. H., Hwang J. Y., Tsai C. C., Lin C. K., Tsen H. Y. Optimization of medium composition for improving biomass production of *Lactobacillus plantarum* Pi06 using the Taguchi array design and the Box-Behnken method. *Biotechnology and bioprocess engineering*. 2012. Vol. 17, № 4. P. 827—834. doi: 10.1007/s12257-012-0007-4.
8. De Man J. C., Rogosa D. M., Sharpe M. E. A medium for the cultivation of Lactobacilli. *Journal of applied Bacteriology*. 1960. Vol. 23, № 1. P. 130—135. doi: 10.1111/j.1365-2672.1960.tb00188.x.
9. Chiang M. L., Chen H. C., Chen K. N., Lin Y. C., Lin Y. T., Chen M. J. Optimizing production of two potential probiotic *Lactobacilli* strains isolated from piglet feces as feed additives for weaned piglets. *Asian-Australasian journal of animal sciences*. 2015. Vol. 28, № 8. P. 1163—1170. doi: 10.5713/ajas.14.0780.
10. Домотенко Л. В., Шепелин А. П., Дегушев К. В. Сравнительные испытания Лактобакагара и MRS агары. *Человек и его здоровье*. 2014. № 4. С. 5—10.
11. Palles T., Beresford T., Condon S., Cogan T. M. (1998). Citrate metabolism in *Lactobacillus casei* and *Lactobacillus plantarum*. *Journal of Applied Microbiology*. 1998. Vol. 85. № 1. P.147—154. doi: 10.1046/j.1365-2672.1998.00486.x.



**ГЕНЕТИКА, ГЕНОМИКА ВА
БИОТЕХНОЛОГИЯНИНГ ЗАМОНАВИЙ
МУАММОЛАРИ**

**Республика илмий анжумани
12 август 2020 йил**

**СОВРЕМЕННЫЕ ПРОБЛЕМЫ ГЕНЕТИКИ,
ГЕНОМИКИ И БИОТЕХНОЛОГИИ**

**Республиканская научная конференция
12 августа 2020 года**

Ташкент



**ЎЗБЕКИСТОН РЕСПУБЛИКАСИ ФАҢЛАР АКАДЕМИЯСИ
ГЕНОМИКА ВА БИОИНФОРМАТИКА МАРКАЗИ**

**ГЕНЕТИКА, ГЕНОМИКА ВА
БИОТЕХНОЛОГИЯНИНГ ЗАМОНАВИЙ
МУАММОЛАРИ**

**РЕСПУБЛИКА ИЛМИЙ АНЖУМАНИНИНГ ТЕЗИСЛАР
ТЎПЛАМИ**

12 август 2020 йил

**АКАДЕМИЯ НАУК РЕСПУБЛИКИ УЗБЕКИСТАН
ЦЕНТР ГЕНОМИКИ И БИОИНФОРМАТИКИ**

**СБОРНИК ТЕЗИСОВ
РЕСПУБЛИКАНСКОЙ НАУЧНОЙ КОНФЕРЕНЦИИ**

**СОВРЕМЕННЫЕ ПРОБЛЕМЫ ГЕНЕТИКИ,
ГЕНОМИКИ И БИОТЕХНОЛОГИИ**

12 августа 2020 года

Ташкент – 2020 год



в растениеводстве	265
Сахибназарова Х.А., Муминов М.И., Саидова И.М., Баширхонов З.Х., Якубов И.Т., Миралимова Ш.М. Бактриоцин пептидини синтезловчи <i>Lactobacillus plantarum</i> P-1 штаммини идентификацияси	271
Солошенко К.И., Лыч И.В., Волошина И.Н. Биотехнологические особенности получения функциональных продуктов из козьего молока	274
Усманкулова А.А., Мавлоний М.И. Микрофлора консервных производств Сурхандарьинской области Республики Узбекистан	275
Хонькив М.А., Даниленко С.Г. Выделение и отбор молочнокислых бактерий – компонентов закваски для силосования растительного сырья	278
Шеркулова Ж.П., Эшонкулов Э.Й., Суюнова Г.А., Зубайдова З.Т. Биологик фаол моддалар синтези учун <i>Aspergillus niger</i> Tiegh. замбуруғининг тоза штаммини ажратиб олиш	280
Эсанов Р.С., Гафуров М.Б. Глицирризин кислотаси айрим комплексларининг гидродинамик хусусиятлари тадқиқи	282
Якубов И.Т., Сахибназарова Х.А., Мавлонов Ғ.Т., Урлачер В., Миралимова Ш.М. <i>Lactobacillus plantarum</i> Mal штаммидан тоза холда олинган бактриоцин пептидини тавсифлаш	284
Ярош М.Б., Вороненко А.А., Пирог Т.П. Интенсификация микробного экзополисахарида этаполана на смеси этанола и подсолнечного масла	286
III. БИОМЕДИЦИНА И ФАРМАКОЛОГИЯ	289
Mirakbarova Z., Yusupbekov A. ² , Turdikulova Sh. EGFR deletions screening in patients with lung adenocarcinoma	289
Mustafakulov M.A., Rakhimov R.N., Ishankhodjaev T.M., Saatov T.S. Research of antioxidant and hypoglycemic activity of polyphenolic preparations of euforbin	290
Mustafakulov M.A., Ishankhodjaev T.M., Rakhimov R.N., Saatov T.S.	



ВЫДЕЛЕНИЕ И ОТБОР МОЛОЧНОКИСЛЫХ БАКТЕРИЙ– КОМПОНЕНТОВ ЗАКВАСКИ ДЛЯ СИЛОСОВАНИЯ РАСТИТЕЛЬНОГО СЫРЬЯ

Хонькив М.А., Даниленко С.Г.

Национальный университет пищевых технологий
Украина, 01601, г. Киев, ул. Владимирская 68
info@nuft.edu.ua

Институт продовольственных ресурсов Национальной академии аграрных наук
Украина, 02000, г. Киев, ул. Евгения Сверстюка, 4А
ipr_2018@ukr.net

Как известно, биологический подход управления силосованием базируется на использовании разных видов молочнокислых бактерий. В настоящее время известны биоконсерванты для силосования зеленых кормов трех поколений.

Первое поколение - препараты, состоящие из гомоферментативных молочнокислых бактерий. Препараты второго поколения представляют собой консорциумы гомо- и гетероферментативных МКБ. Препараты третьего поколения, представляют собой консорциумы гомо- и гетеро ферментативных МКБ и пропионовокислых бактерий. Гомоферментативные молочнокислые бактерий характеризуются быстрым сбраживанием сахаров, которые находятся в клеточном соке растений, с преимущественным продуцированием молочной кислоты. При её накоплении понижается рН среды до значений, при которых угнетается развитие анаэробной микрофлоры вызывающей порчу силоса, в частности некоторых видов бактерий родов *Clostridium*, *Enterococcus* и *Bacillus*. Гетероферментативные виды молочнокислых бактерий характеризуются продуцированием не только молочной кислоты, а и значительного количества уксусной кислоты, которая имеет фунгицидный эффект.

Цель настоящей работы – выделить перспективные штаммы молочнокислых бактерий, из различных природных источников и охарактеризовать их физиолого-



биохимические свойства.

Для скрининга лактобацилл использовали кукурузный силос спонтанной ферментации и кроличьи фекалии для выделения энтерококков.

Чистые культуры молочнокислых бактерий выделяли методом глубинного посева на плотные селективные питательные среды.

В ходе исследования из кукурузного силоса было получено 5 активных изолятов палочковидной формы. Для предварительной дифференциации штаммов было установлено их способность сквашивать молоко. На основе полученных результатов штаммы поделили на две группы: первая – 2 штамма, которые не сквашивали молоко при 30°C; вторая – 3 штамма, которые сквашивали молоко за 16-20 часов при той же температуре.

Данные по ферментативной активности выделенных нами культур лактобацилл, показали, что первая группа ферментирует фруктозу, галактозу, глюкозу, инулин, лактозу, мальтозу, маннит, мелибиозу, мелицитозу, рибозу, крахмал, сахарозу, глюконат, и не ферментирует трегалозу, ксилозу, дульцитол, раффинозу, рамнозу, маннозу. В соответствии с определителем Берджи, эти 2 штамма было отнесено к виду *L. buchneri*. Вторая группа сбраживала маннозу, фруктозу, галактозу, глюкозу, инулин, лактозу, мальтозу, рибозу, сахарозу, трегалозу, и не сбраживала глюконат, ксилозу, арабинозу, дульцитол, крахмал, рафинозу, рамнозу, маннит, мелибиозу, мелицитозу. Эти 3 штамма было идентифицировано как *L. plantarum*. С кроличьих фекалий было получено 2 штамма кокковой формы, которые ферментировали целлобиозу, инозитол, сорбит, фруктозу, галактозу, глюкозу, мальтозу, маннозу, маннит, мелицитозу, рамнозу, рибозу, трегалозу, ксилозу, и не ферментировали арабинозу, дульцитол и мелибиозу. Их было идентифицировано как *E. faecium*.

По совокупности результатов изучения культурально-морфологических, биохимических свойств была определена видовая принадлежность изолятов



микроорганизмов: из кукурузного силоса 2 штамма *L. buchneri*, 3 штамма *L. plantarum*, из кроличьих фекалий - 2 штамма *E. faecium*. Полученные данные позволяют рекомендовать исследованные штаммы молочнокислых бактерий для создания новых эффективных бактериальных препаратов для силосования растительного сырья.

БИОЛОГИК ФАОЛ МОДДАЛАР СИНТЕЗИ УЧУН *ASPERGILLUS NIGER* TIEGN. ЗАМБУРУҒИНИНГ ТОЗА ШТАММИНИ АЖРАТИБ ОЛИШ

Шеркулова Ж.П., Эшонкулов Э.Й., Суюнова Г.А., Зубайдова З.Т.

ҚарДУ Микробиология ва биотехнология кафедраси
Қашқадарё вил., Қарши шаҳри, Кўчабоғ кўча 17-уй

Микромицетлар табиатда бошқа тирик организмларга қараганда кенг тарқалган. Чунки улар ниҳоятда майда бўлганлиги ва ташқи муҳит омилларига тез мослаша олганлиги, турли-туман озик моддаларни истеъмол қилиши сабабли бошқа организмлар яшай олмайдиган жойларда ҳам яшай олади. Улар тупроқда, сувда, ҳавода ва бошқа организмлар танасида учрайди.

Микромицетлар томонидан ишлаб чиқарилган метаболитлар иқтисодиётнинг турли соҳаларида кенг қўлланилади.

Илмий адабиётларда микромицетларнинг кўпчилик турлари турли хил биологик фаол моддалар синтез қилиш хусусияти ҳақида маълумотлар келтирилган. Ушбу моддалар тиббиёт, енгил ва озик-овқат саноати, қишлоқ хўжалиги, атроф-муҳитни муҳофаза қилиш билан бир қаторда бошқа соҳаларда фойдаланилиб келинмоқда.

Aspergillus niger Tiegn. Ascomycota бўлими, Eurotiomycetes синфи, Eurotiales тартиби, Aspergillaceae оиласи ва *Aspergillus* туркумига мансуб бўлиб, унинг иккинчи номи қора моғор деб ҳам юритилади.

Маълумотларга кўра, ҳозирда *Aspergillus* туркуми турларининг 180 дан ортиқ

Міністерство освіти і науки України
24-та секція за фаховим напрямом
«Наукові проблеми харчових технологій та промислової біотехнології»
Наукової ради Міністерства освіти і науки України
НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ХАРЧОВИХ ТЕХНОЛОГІЙ



VIII МІЖНАРОДНА НАУКОВО-ТЕХНІЧНА КОНФЕРЕНЦІЯ

**"Наукові проблеми харчових технологій та
промислової біотехнології в контексті
євроінтеграції"**

ПРОГРАМА ТА ТЕЗИ МАТЕРІАЛІВ

5-6 листопада 2019 р.

**Присвячена 135-річчю
НАЦІОНАЛЬНОГО УНІВЕРСИТЕТУ
ХАРЧОВИХ ТЕХНОЛОГІЙ**

КИЇВ НУХТ 2019

Наукові проблеми харчових технологій та промислової біотехнології в контексті євроінтеграції: Програма та тези матеріалів VIII Міжнародної науково-технічної конференції, 5-6 листопада 2019 р., м. Київ. – К.: НУХТ, 2019. – 433 с.

ISBN 978-966-612-230-1

Подано програму і тези матеріалів доповідей VIII Міжнародної науково-технічної конференції «Наукові проблеми харчових технологій та промислової біотехнології в контексті євроінтеграції» відповідно до тематичних напрямів 24-ї секції «Наукові проблеми харчових технологій та промислової біотехнології» Наукової ради Міністерства освіти і науки України.

Метою конференції є розширене висвітлення наукових здобутків, ознайомлення експертів харчової промисловості та промислової біотехнології, підвищення рівня проведення експертиз проєктів, що подаються на конкурси з отримання грантів для фінансування за кошти державного бюджету та їх спрямування на розширення тематики наукових проєктів для можливості співпраці науковців у світовому науковому просторі.

*Рекомендовано Вченою радою НУХТ
Протокол № 3 від «31» жовтня 2019 р.*

ISBN 978-966-612-230-1

© НУХТ, 2019

ЗМІСТ

Секція 1.

Промислова біотехнологія, процеси та апарати харчової, мікробіологічної та фармацевтичної промисловості

1	Л.В. Ключка, А.М. Царьова, Г.А. Ярова, Т.П. Пирог Антимікробна активність поверхнево-активних речовин <i>NOCARDIA VACCINIIMB B-7405</i> , синтезованих на наявності дріжджів роду <i>CANDIDA</i>	19
2	В.Г. Мирончук, Ю.Г. Змієвський, В.В. Захаров, О.А. Устінов Застосування екологічних способів для переробки нанофільтраційного пермеату молочної сироватки та отримання природних концентратів мінеральних речовин	21
3	В.М. Якимчук, О.М. Гавва Управління мехатронними модулями пакувальних машин за критерієм ефективного використання енергетичних ресурсів	23
4	А.І. Капустян, Н.К. Черно, А.С. Пукас Муропептиди – перспективні фізіологічно-функціональні харчові інгредієнти	25
5	О.І.Черевко, О.А. Маяк, С.М. Костенко, А.М. Сардаров Комплексна оцінка тепломасообмінного обладнання імітаційного моделювання	27
6	В. М. Подолянчук, В.М. Чорний, В.Л. Зав'ялов, Т.Г. Мисюра Дослідження кінетики екстрагування розчинних речовин з рослинної сировини та математичний опис процесу	29
7	Т.П. Пирог, Д.В. П'ятецька, Н.О. Клименко, Н.О. Леонова, Т.А. Шевчук Синтез гіберелінів продуцентами поверхнево-активних речовин <i>NOCARDIA VACCINIIMB B-7405</i> , <i>ACINETOBACTER CALCOACETICUS IMB B-7241</i> ТА <i>RHODOCOCCUS ERYTHROPOLIS IMB Ac-5017</i>	31
8	Т.П. Пирог, Д.В. П'ятецька, Н.О. Клименко, Н.О. Леонова, Т.А. Шевчук Інтенсифікація синтезу фітогормонів ауксинової природи продуцента поверхнево-активних речовин <i>NOCARDIA VACCINIIMB B-7405</i>	33
9	А.В. Деренівська, Л.О. Кривопляс-Володіна, С.В. Токарчук Імітаційне моделювання раціональних параметрів функціональних модулів пакувальної лінії	35
10	М.О. Хоньків, К.О. Іскра, С.Г. Даниленко Лактобацили для силосування рослинної сировини	37
11	Л. В. Стрельченко, І. В. Дубковецький Розробка ресурсоощадного обладнання для промислового виробництва	39
12	В.Л. Зав'ялов, Т.Г. Мисюра, Ю.В. Запорожець, Н.В. Попова Вплив режимних параметрів на кінетику безперервного віброекстрагування рослинної сировини	42
13	В.В. Середюк, О.О. Чепелюк, О.М. Чепелюк Обґрунтування режиму роботи обладнання для сушіння міцеляльної біомаси	44

Висновок. Імітаційне моделювання поетапного переміщення продукції під час пакування, аналіз інтенсивності переміщення продукції у транспортних системах та функціональних модулях дає можливість: обґрунтувати ступінь завантаженості однотипних функціональних модулів передбачити їх оптимальну кількість; розподілити потік продукції між функціональними модулями; визначити раціональні кінематичні параметри роботи транспортних систем та модулів; дослідити модель безперервного переміщення із переорієнтуванням та розподіленням матеріальних потоків; передбачити рівномірність випуску продукції на основі єдиного розрахункового такту лінії пакування.

УДК 636.085.52: 631.563.6

10. ЛАКТОБАЦИЛИ ДЛЯ СИЛОСУВАННЯ РОСЛИННОЇ СИРОВИНИ

М.О. Хоньків¹, К.О. Іскра², С.Г. Даниленко³

1 - Національний університет харчових технологій, Київ, Україна

2 - Національний університет біоресурсів та природокористування України, Київ, Україна

3 - Інститут продовольчих ресурсів НААН України, Київ, Україна

Вступ. Процес силосування заснований на пригніченні мікробіоти псування рослинної сировини продуктами природнього бродіння деяких представників її епіфітної мікробіоти, які зумовлюють різке зниження рН силосу. Такими представниками є лактобактерії. Їх ферментні системи здійснюють перетворення водорозчинних вуглеводів переважно до таких органічних кислот як молочна, оцтова, пропіонова, внаслідок чого, у масі, що силосується, утворюється середовище із рН 4,0-4,2, яке нижче за рівень виживання мікробіоти псування [1-3].

За мету було поставлено вивчення біохімічних показників якості силосу, заготовленого з кукурудзи із використання біопрепарату «Сінсил-ТІММ»,

розробленого на базі Інституту продовольчих ресурсів НААН України при заготівлі кукурудзяного силосу. В склад препарату входять високоактивні штами лакто- та пропіоновокислих бактерій.

Виходячи з мети була поставлена задача дослідити якість силосу за такими показниками як: хімічний склад, кислотність, збереження сухих речовин (СР), вміст сирого протеїну (СП), аміаку, лігніну, нейтрально- та кислотно-детергентної клітковини (відповідно НДК та КДК). Досліди проводили у відповідності із загальноприйнятими методами досліджень з питань кормовиробництва і годівлі тварин [4].

Результати та обговорення. У ході дослідження було порівняно контрольний (без інокуляції) і дослідний (з додаванням препарату) зразки кукурудзяного силосу через 120 днів від закладання сировини в траншеї, та після відбору одержано та проаналізовано наступні результати, які наведено в таблиці 1.

Таблиця 1.- Хімічний склад контрольного та дослідного зразків силосу

Зразки силосу	СР, %	Сирий протеїн, %	pH	Вміст молочної кислоти, % СР.	Вміст оцтової кислоти, % СР	КДК, %	НДК, %	Лігнін, г/кг	NH ₃ -N в перерахунку на N, %
Контроль	32,5	9,3	4,42	5,6	2,8	26,6	32,1	31,2	4,6
Дослід	24,4	8,8	3,84	6,5	2,1	24,8	29,9	30	5,4

Застосування бактеріальної закваски дало позитивний результат при силосуванні кукурудзи. Аналіз показників складу контрольного і дослідного силосу показав, що додавання закваски «Сінсил-ТІММ» зменшує аеробні втрати сухих речовин, та протеїну за рахунок зниження кислотності до pH 3,8 і збільшення вмісту молочної кислоти до 6,5 %, та покращення перетравлюваності силосу за рахунок зменшення вмісту КДК, НДК та лігніну. За органолептичними показниками (колір, запах, структура) силос відповідає критеріям якості кормів, а саме має приємний фруктовий запах, добре

сформовану структуру та сприяє підвищенню продуктивності тварин.

Список літератури.

1. Dann H.M., Grant R.J., Cotanch K.W. et.al. Comparison of brown midrib sorghum-sudangrass with corn silage on lactational performance and nutrient digestibility in Holstein dairy cows // J Dairy Sci. – 2008. – V. 91, № 8 – P.663–672.
2. Aksu, T., Baytok, E., & Bolat, D. Effects of bacterial silage inoculation on corn silage fermentation and nutrient digestibility // Small Ruminant Research – 2004. – V.55, № 1-3. – P. 249–252.
3. Muck R.E, Nadeau E.M.G, Contreras-Govea F.E. et.al. Silage review: recent advances and future uses of silage additives // J. Dairy Sci., – 2018. – V.101, P. 3980–4000.
4. Костенко В.М., Панько В.В., Сироватко К.М., Практикум з годівлі сільськогосподарських тварин. Частина I “Хімічний склад, оцінка поживності та якості кормів”. – Вінниця: РВВ ВДАУ, 2008. – 141 с.

УДК 664.854

11. РОЗРОБКА ЕНЕРГООЩАДНОГО СУШИЛЬНОГО ОБЛАДНАННЯ ДЛЯ ПРОМИСЛОВОГО ВИРОБНИЦТВА

Л. В. Стрельченко, І. В. Дубковецький

Національний університет харчових технологій, Київ, Україна

Однією з цілей державної політики України у сфері енергоефективності визначено програму, згідно якої до кінця 2020 р. має знизитись енергомісткість ВВП на 20 %, шляхом переходу до використання енергоефективних технологій та обладнання; енергоощадне використання та споживання енергоресурсів із впровадженням інноваційних технологій; реалізацію проектів з використанням альтернативних джерел енергії [1]. Тому питання розробки і впровадження енергоощадного сушильного обладнання є актуальним.

Міністерство освіти і науки України
Інститут модернізації змісту освіти
Національний технічний університет України
«Київський політехнічний інститут імені Ігоря Сікорського»
Національна академія наук України
Інститут клітинної біотехнології та генетичної інженерії

БИОТЕХНОЛОГИЯ XXI СТОЛІТТЯ



Матеріали

XIV Всеукраїнської науково-практичної конференції
«Біотехнологія XXI століття» присвяченої 135-річчю від дня народження
Олександра Володимировича Палладіна
(для студентів, аспірантів і молодих вчених)

20 травня 2020 року



Київ-2020

<i>Султанова А.С.</i> ПОРІВНЯННЯ ФАРМАКО-ЕКОНОМІЧНОЇ ЕФЕКТИВНОСТІ ЗАСТОСУВАННЯ СИСТЕМ ДЛЯ ВИДІЛЕННЯ СТРОМАЛЬНО-ВАСКУЛЯРНОЇ ФРАКЦІЇ.....	81
<i>То М.Т.</i> Культивування <i>in vitro</i> та отримання бородатих коренів <i>Astragalus dasyanthus</i>	82
<i>Трофімов Я. О.</i> РОЗРОБКА ЕФЕКТИВНОЇ МЕТОДИКИ ОТРИМАННЯ БІОТЕХНОЛОГІЧНИХ РОСЛИН СПЕЛЬТИ РІЗНИХ ГЕНОТИПІВ З АПКАЛЬНИХ МЕРИСТЕМ.....	83
<i>Трошина О.Ю.</i> ОСОБЛИВОСТІ КАЛЮСОУТВОРЕННЯ РІЗНИХ ВИДІВ ЗВІРОБОЮ.....	84
<i>Тунч М.Е.</i> РІВЕНЬ ЦИРКУЛЮЮЧИХ ІМУННИХ КОМПЛЕКСІВ У СИРОВАТЦІ КРОВІ ЩУРІВ З ПРОГЕСТЕРОН-ІНДУКОВАНИМ ОЖИРІННЯМ ПРИ ВВЕДЕННІ МЕЛАНІНУ.....	85
<i>Ulziijargal E.</i> BACTERIAL PREPARATION FOR AGRICULTURAL USE.....	86
<i>Улзійжаргал Ерденецогт</i> АНТИОКСИДАНТНА ДІЯ БІОПРЕПАРАТА АЗОГРАН НА НАСІННЯ ЯЧМЕНЮ.....	87
<i>Фокіна А.В.</i> ОПТИМІЗАЦІЯ НА ЕТАПІ ВВЕДЕННЯ ПАВЛОВНІЇ В КУЛЬТУРУ <i>IN VITRO</i>	88
<i>Хоньків М.О.</i> ОПТИМІЗАЦІЯ СКЛАДУ ПОЖИВНОГО СЕРЕДОВИЩА ДЛЯ ПРОМИСЛОВОГО ВИРОБНИЦТВА СИЛОСНОЇ ЗАКВАСКИ.....	89
<i>Хоньків М.О.</i> ЗБЕРІГАННЯ МІКРОБІОТИ КЕФІРНОГО ГРИБКА МЕТОДОМ ЗАМОРОЖУВАННЯ.....	90
<i>Черепанський В.В.</i> АНАЛІЗ ЗБЕРЕЖЕННЯ ЖИТТЄЗДАТНОСТІ КЛІТИН ПРОБІОТИЧНИХ ШТАМІВ МІКРООРГАНІЗМІВ У БІОДЕГРАДАБЕЛЬНІЙ ПЛІВЦІ.....	91
<i>Чорний С.І.</i> ЧИ Є ЕТИЛЕН "КЛАСИЧНИМ РОСЛИННИМ ГОРМОНОМ"?....	92
<i>Чосик Т.С.</i> ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА КОРОНОВІРУСУ COVID-2019..	93
<i>Чубук А.О.</i> ПРОБЛЕМАТИКА РОЗРОБКИ НЕІНВАЗИВНИХ ГЛЮКОМЕТРІВ НА ОСНОВІ БІОСЕНСОРІВ.....	94
<i>Шатоха Д.Г.</i> МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧНИЙ АНАЛІЗ ТРАНСГЕННИХ РОСЛИН ОЗИМОГО РІПАКУ <i>BRASSICA NAPUS L.</i> ЛІНІЇ ВІТЧИЗНЯНОЇ СЕЛЕКЦІЇ.....	95
<i>Шебеда Д. С.</i> ПЕРСПЕКТИВИ РОЗВИТКУ ТРЮФЕЛЬНОГО ПРОМИСЛУ В УКРАЇНІ.....	96
<i>Шевченко К. В.</i> ВИКОРИСТАННЯ ІНТЕРФЕРОНУ В МЕДИКАМЕНТОЗНІЙ ТЕРАПІЇ ХВОРИХ НА МЕТАСТАЗУЮЧИЙ РАК ПРЯМОЇ КИШКИ.....	97
<i>Шкарлат П.А.</i> ЩОДО ВДОСКОНАЛЕННЯ ТЕХНОЛОГІЇ ВИРОБНИЦТВА КОНЬЯЧНОГО СПИРТУ.....	98
<i>Шкрябун М.Ю.</i> ПЕРСПЕКТИВИ ЗАСТОСУВАННЯ ФЕРМЕНТУ ТРАНСГЛЮТАМІНАЗА В М'ЯСНІЙ ПРОМИСЛОВОСТІ.....	99
<i>Шугурова А.Б.</i> ЗАСТОСУВАННЯ БАКТЕРІОФАГІВ ДЛЯ БОРОТЬБИ З БАКТЕРІЯМИ, РЕЗИСТЕНТНИМИ ДО АНТИБІОТИКІВ.....	101
<i>Yurchenko O.</i> THE EFFECT OF PROBIOTIC COMPOSITION AND CHONDROITIN SULFATE ON THE PROCESS OF LIPID PEROXIDATION IN BLOOD SERUM OF RATS WITH EXPERIMENTAL OSTEOARTHRITIS.....	102
<i>Ярова Г.А.</i> АНТИАДГЕЗИВНА ДІЯ ПОВЕРХНЕВО-АКТИВНИХ РЕЧОВИН <i>RHODOCOCCUS ERYTHROPOLIS</i> ІМВ Ac-5017, СИНТЕЗОВАНИХ ЗА ПРИСУТНОСТІ БІОЛОГІЧНИХ ІНДУКТОРІВ.....	103
<i>Yaroshko O.M.</i> DEVELOPMENT OF HAIRY ROOT CULTURE IN <i>PHYSALIS PERUVIANA L.</i>	104
<i>Ярошко О.М.</i> ВИВЧЕННЯ УСПАДКУВАННЯ ГЕТЕРОЛОГІЧНОГО ГЕНА	

УДК 636.085.52: 631.563.6

ОПТИМІЗАЦІЯ СКЛАДУ ПОЖИВНОГО СЕРЕДОВИЩА ДЛЯ ПРОМИСЛОВОГО ВИРОБНИЦТВА СИЛОСНОЇ ЗАКВАСКИ

Хоньків М.О.^{1,2}, Даниленко С.Г.², Півець Л.В.²

¹Національний університет харчових технологій, вул. Володимирська 68,
Київ, 01601

²Інститут продовольчих ресурсів Національної академії аграрних наук, вул.
Євгена Сверстюка, 4 а, м. Київ, 02002, biotech_ipr@ukr.net

Технологія одержання комбінованих препаратів для силосування має ряд переваг перед монокомпонентними, внаслідок прояву декількох типів альтернативних метаболізмів молочнокислих бактерій. Проте, навіть вдало підібраний склад не завжди гарантує ефективність препаратів. Про це свідчить їх низька активність в природніх умовах, що пояснюється не адаптованими до сировини культурами мікроорганізмів. Цього можна досягти використанням штамів виділених з силосу природнього бродіння високої якості [1].

Однак, на природню адаптацію даного типу біологічних агентів впливає розвиток їх ферментних систем, які формуються на етапах одержання бактеріальної біомаси залежно від джерел поживних речовин. Так, є повідомлення, що для збільшення приросту біомаси молочнокислих бактерій, в поєднанні з дріжджовим та м'ясним екстрактом можуть бути використані недорогі альтернативи азотного живлення, такі як, наприклад - кукурудзяний екстракт. Це є актуальним в біотехнології препаратів саме для силосування кукурудзи [2]. Тож метою роботи було визначити раціональні концентрації складових поживного середовища з кукурудзяним екстрактом, як основного джерела азоту, для нарощування біомаси бактеріальної композиції, наступного складу: *Lactobacillus. buchneri* 3806 + *L. plantarum* 3796 + *Enterococcus faecium* C-8-12.

Використовуючи метод ротатбельного центрально-композиційного планування було оптимізовано поживне середовище наступного складу г/л: глюкоза – 19,7; дріжджовий екстракт – 7,8; кукурудзяний екстракт – 23,6; казеїновий пептон – 9,1; цитрат натрію – 6,6; ацетат натрію – 3,4; калій фосфорнокислий однозаміщений – 2; марганець сірчаноокислий 4-водний – 0,2; манган сірчаноокислий 7-водний – 0,2; Твін-80 – 1. Після культивування бактеріальної композиції протягом 14 год за 37 °С одержане значення оптичної густини бактеріальної суспензії склало 2,01, що практично в два рази більше ніж значення, яке було одержано при культивуванні тієї ж композиції на загальноживаному середовищі МРС (Ман, Рогоза, Шарп).

1. Ni K. Characterization, identification and application of lactic acid bacteria isolated from forage paddy rice silage [Text]// K. Ni, Y. Wang, D. Li, Y. Cai, H. Pang.// PloS one. 2015, 10 (3) - e0121967.

2. Кудряшов В. Л. Ультраконцентрат кукурудзяного екстракта-перспективний компонент питательных сред: технология производства и перспектива использования. [Текст]// В. Л. Кудряшов, Н. Д. Лукин, М. Б. Оверченко, Н. С. Погоржельская, В. Е. Постникова, Е. Н. Соколова, Н. А. Фурсова// Перспективные биотехнологические процессы в технологиях продуктов питания и кормов – 2014. - С. 379-385.

ЗБЕРІГАННЯ МІКРОБІОТИ КЕФІРНОГО ГРИБКА МЕТОДОМ ЗАМОРОЖУВАННЯ

Хоньків М.О., Даниленко С.Г., Потемська О.І.

*Інститут продовольчих ресурсів Національної академії аграрних наук вул.
Євгена Сверстюка, 4 а, м. Київ, 02002, biotech_ipr@ukr.net*

Кефір – продукт молочнокислого та спиртового бродіння, що виробляють сквашуванням молока природною закваскою - кефірних грибків. До основних компонентів мікробіоти кефірних грибків є мікроорганізми чотирьох фізіологічних груп, саме термофільні та мезофільні молочнокислі бактерії, які здійснюють гомо- і гетероферментативне бродіння, дріжджі, які здійснюють спиртове бродіння і оцтовокислі бактерії.

У кефірних грибках описано присутність понад 20 видів молочнокислих бактерій різних родів, понад 10 родів і видів дріжджів, 2 види оцтовокислих бактерій [1, 2]. Під час виробництва кефіру необхідно забезпечити розвиток всіх груп мікроорганізмів гарантує одержання продукту з характерними органолептичними властивостями

Актуальним завданням є збереження мікробіоти кефірних грибків під час тривалого зберігання за умов ліофілізації та заморожування. Тому метою роботи було підібрати захисне середовище для заморожування кефірних грибків, яке б дозволяло зберегти необхідне співвідношення між основними групами мікробіоти.

Показано, що під час заморожування та сушіння грибки значно втрачають активність та порушувалося співвідношення між певними групами мікробіоти. Застосування загальновідомого захисного середовища на основі желатину, сахарози та знежиреного молока не дає бажаного позитивного ефекту. Активність зсідання знежиреного молока після заморожування/відтавання досягалося такими кефірними грибами була в межах 16-18 год.

Найбільше виживання мікробіоти кефірних грибків після заморожування/відтавання досягалося із застосуванням в захисному середовищі пектину 20 %. Це середовище забезпечує виживання після заморожування / відтавання дріжджів на рівні 54-67 %, оцтовокислих бактерій – 82-93%, *Lactobacillus ssp.* - 76-82%, *Leuconostoc ssp.*-84-92% та *Lactococcus lactis ssp.* – 85-88%. Тривалість відновлення їх мікробіологічного балансу та здатності до активного розвитку становить 10 діб за умови щоденного промивання.

1. Градова Н.Б. Исследование микробного профиля структурированной ассоциативной культуры микроорганизмов – кефирных грибков [Текст] / Н.Б. Градова, А.А. Саранцева // Известия Самарского научного центра Российской академии наук – 2012, т. 14, №5(3), – С. 704-710

2. Garrote, G.L. Chemical and microbiological characterisation of kefir grains / G.L. Garrote, A.G. Abraham, G.L. de Antoni // Journal of Dairy Research – 2001, 68. – P. 639-652.

**МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
ТАВРІЙСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
ІМЕНІ В.І. ВЕРНАДСЬКОГО**

Журнал заснований у 1918 році

**ВЧЕНІ ЗАПИСКИ
ТАВРІЙСЬКОГО НАЦІОНАЛЬНОГО УНІВЕРСИТЕТУ
ІМЕНІ В.І. ВЕРНАДСЬКОГО**

Серія: Технічні науки

Том 30 (69) № 4 2019

Частина 2

**Київ
2019**

Білей-Рубан Н.В., Полуда С.Н. УДОСКОНАЛЕННЯ ТЕХНОЛОГІЧНОГО ПРОЦЕСУ ВИГОТОВЛЕННЯ ОДЯГУ НА ОСНОВІ ЕРГОНОМІЧНОЇ РЕОРГАНІЗАЦІЇ РОБОЧИХ МІСЦЬ.....	83
Грушковська А.О., Даниленко С.Г., Крижська Т.А., Хоньків М.О. ВПЛИВ МОЛОЧНОКИСЛИХ БАКТЕРІЙ НА ПОКАЗНИКИ ЖИТНЬОЇ ЗАКВАСКИ.....	92
Лісніченко О.О., Соколова Є.Б., Карпенко З.П. РОЗРОБКА РЕЦЕПТУРИ ПЛАВЛЕНИХ СИРІВ ІЗ ПІДВИЩЕНОЮ БІОЛОГІЧНОЮ ЦІННІСТЮ ЗА РАХУНОК ВВЕДЕННЯ КОНЦЕНТРАТУ СИРОВАТКОВОГО БІЛКА.....	98
Медвідь І.М., Шидловська О.Б., Доценко В.Ф. ДОСЛІДЖЕННЯ ВПЛИВУ ГІДРОКОЛОЇДІВ НА СТРУКТУРНО-МЕХАНІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ ТІСТА І ЯКІСТЬ БЕЗГЛУТЕНОВОГО ХЛІБА.....	104
Ройко О.М., Арсеньєва Л.Ю., Ройко О. Ю., Паламарчук О.П. ОБРУНТУВАННЯ ТА РОЗРОБКА ТЕХНОЛОГІЇ ЕКСТРАКТИВ НА ОСНОВІ ФУНКЦІОНАЛЬНОЇ ФІТОКОМПОЗИЦІЇ «АНТИСТРЕС» АДАПТОГЕННОГО ПРИЗНАЧЕННЯ.....	111
Сімахіна Г.О. УДОСКОНАЛЕННЯ ТЕХНОЛОГІЇ ЗАМОРОЖУВАННЯ ЯГІД ПОЄДНАННЯМ ШТУЧНОГО ХОЛОДУ І КРІОПРОТЕКЦІЇ.....	117
Скрипніченко Д.М., Казюк В.О., Безземельний О.М. РОЗРОБКА ТЕХНОЛОГІЇ СИРОВАТКОВИХ НАПОЇВ СПОРТИВНОГО ПРИЗНАЧЕННЯ.....	122
ТРАНСПОРТ	
Коскіна Ю.О. ДЕКОМПОЗИЦІЯ ПРОЦЕСУ ДОСТАВКИ ТОВАРІВ ЗА УЧАСТІ МОРСЬКОГО ТРАНСПОРТУ З ПОЗИЦІЙ ПРОЦЕСНОГО ПІДХОДУ.....	128
Larkina I.O., Malaksiano M.O., Glavatskykh V.I. TO THE ISSUE OF THE POSSIBILITY OF OPERATING VESSELS AT SLOW SPEEDS.....	134
Стрелко О.Г., Кириченко Г.І., Бердниченко Ю.А., Лиман А.С. УДОСКОНАЛЕННЯ СИСТЕМИ ОБСЛУГОВУВАННЯ КЛІЄНТІВ НА ЗАЛІЗНИЦЯХ УКРАЇНИ З ОГЛЯДУ НА ДОСВІД ІНШИХ ДЕРЖАВ.....	141
Шевчук В.В., Кутковецька Т.О. АНАЛІЗ ДОСЛІДЖЕНЬ ДОВГОВІЧНОСТІ ГІДРОСИСТЕМ МОБІЛЬНИХ МАШИН.....	146
ЕЛЕКТРОНІКА	
Очеретько О.Я., Розорінов Г.М. ТЕХНОЛОГІЇ РОЗПОВСЮДЖЕННЯ ТА ЗАХИСТУ ЦИФРОВИХ КІНОФІЛЬМІВ.....	151
ВІДОМОСТІ ПРО АВТОРІВ.....	159

Грушковська А.О.

Інститут продовольчих ресурсів Національної академії аграрних наук

Даниленко С.Г.

Інститут продовольчих ресурсів Національної академії аграрних наук

Крижеська Т.А.

Сумський національний аграрний університет

Хоньків М.О.

Інститут продовольчих ресурсів Національної академії аграрних наук

ВПЛИВ МОЛОЧНОКИСЛИХ БАКТЕРІЙ НА ПОКАЗНИКИ ЖИТНЬОЇ ЗАКВАСКИ

У даній статті наведено спосіб приготування заквасок для житніх сортів хліба з додаванням чистих культур молочнокислих бактерій різних видів. Описано процес виведення та наведено показники якості готових заквасок, а саме, органолептичні та біотехнологічні. Досліджено специфіку змін кислотності, піднімальної сили, та активності молочнокислих бактерій як основних показників якості заквасок в процесі оновлення. Досліджено чинники, які впливають на активність молочнокислих бактерій, вибрано оптимальні параметри бродіння закваски та наведена порівняльна характеристика із контрольними зразками, а саме закваскою спонтанного бродіння та закваскою з додаванням дріжджів *S. cerevisiae*. В роботі було схарактеризовано органолептичні властивості заквасок. Закваски через 120 год зберігання мали більш виражений, як порівняти зі свіжими заквасками, аромат. Плісняви на поверхні жодної закваски не спостерігалось.

Виявлено, що в заквасці, приготовленої із використанням культури *Lactobacillus buchneri* найкращі показники піднімальної сили та кислотності.

У закваски виведеної з додаванням культури *L. fermentum* на 120 годину оновлення піднімальна сила становила 50 хв, на рівні з закваскою спонтанного бродіння, це дало змогу визнати її непридатною для розведення (закваска потребує більше ніж п'ять оновлень).

Застосування молочнокислих бактерій дозволяє вести та зберігати закваску в активному стані. Кінцева кислотність і піднімальна сила закваски, яку було отримано під час досліджень, становила 22 град і 25 хв відповідно.

На основі аналізу біотехнологічних показників заквасок та їхньої зміни в процесі оновлення зроблено висновки щодо їхньої стійкості. Зроблено припущення про наявність стійких штамів молочнокислих бактерій та доцільність їхнього застосування у складі заквасок, що дасть змогу отримати вироби з високими органолептичними та фізико-хімічними показниками якості.

Ключові слова: борошно, житній хліб, молочнокислі бактерії, закваска, активність, бродіння.

Постановка проблеми. Хліб – один із найважливіших харчових продуктів всіх жителів Землі упродовж багатьох тисячоліть. Виробники пропонують великий асортимент різновидів хліба, багато які з них мають унікальні властивості.

Деякі століть тому в Україні хлібобулочні вироби з житнього борошна були досить поширеними, на відмінну від пшеничних, які вважалися делікатесом і випікалися лише до великих свят. Традиційно, житні та житньо-пшеничні види хлібобулочних виробів виготовляють із використанням заквасок. Це пов'язано з особливостями вуглеводно-амілазного та білково-протеїнажного

комплексів житнього борошна [1, с. 33; 2, с. 25].

Хімічний склад житнього борошна характеризується зниженим вмістом білка. За структурою житнє тісто менш еластичне та менш пружне, бо в ньому немає каркасу клейковини, властивого пшеничному тісту. На ступінь пептизації білків суттєво впливають насамперед вміст молочної кислоти житнього тіста та кислотність. За недостатньої високої кислотності у рідку фазу житнього тіста переходить невелика кількість пептизованого білку [3, с. 5].

Закваска – це густий чи рідкий напівфабрикат хлібної промисловості, дія якої базується на

комбінації спиртового і молочнокислого бродіння поживної суміші житнього, житньо-пшеничного або пшеничного борошна [4, с. 16].

Для виробництва хліба з високими якісними характеристиками застосовують закваски на основі чистих молочнокислих культур, дія яких забезпечує високі якісні характеристики у готовому продукті. Смак і аромат хліба багато в чому залежать від співвідношення вмісту молочної та оцтової кислот. Молочна кислота надає хлібу приємний кислуватий смак, а оцтова – специфічний аромат. Саме зброджування частини борошна в заквасці забезпечує отримання вищої початкової кислотності тіста. Водночас створюються оптимальні умови для зниження активності α -амілази, для достатнього набухання білків, пентозанів і оболонкових частинок. Це забезпечує отримання хліба із житнього та житньо-пшеничного борошна з високими смаковими властивостями [5, с. 1168; 6, с. 181; 7, с. 28; 8, с. 347].

Попри удаване різноманіття хлібопекарських заквасок на ринку, всі культури умовно можна розділити на 3 принципово різні групи:

1) сухі закваски на основі чистих культур молочнокислих бактерій і дріжджів;

2) рідкі або сухі інактивовані закваски на основі борошна та/або зерна, ферментовані молочнокислими мікроорганізмами та дріжджами;

3) рідкі або сухі активні закваски на основі борошна та/або зерна, ферментовані молочнокислими мікроорганізмами та дріжджами [4, с. 326].

Основні функції закваски:

- підвищення кислотності напівфабрикатів;
- вплив на формування реологічних властивостей тіста;
- поліпшення смакових-ароматичних властивостей готової продукції;
- прискорення процесу бродіння, збільшення водопоглинальної здатності тіста;
- зниження крихтливості, надання більшої еластичності м'якушці виробів (більш волога на дотик);
- більш виражений молочнокислий смак та аромат хліба;
- сповільнення черствіння.

Стабільність біотехнологічних властивостей заквасок досягається дотриманням необхідних технологічних параметрів (температура, вологість, тривалість бродіння, кількість закваски, кількість оновлень). Відомо, що зі збільшенням вологості заквасок створюються кращі умови для розвитку дріжджів, знижується інтенсивність кислотоутворення, а результатом є зменшення

кількості поживних речовин для молочнокислих бактерій [9, с. 23; 10 с. 4].

Відомо, що спонтанна мікробіота закваски не завжди може забезпечити контрольований перебіг бродіння напівфабрикатів. Тому рекомендується до складу закваски слід додавати чисті культури молочнокислих бактерій, які активно пригнічують спонтанну мікробіоту та «дикі» дріжджі [10, с. 32].

Біотехнологічні процеси в заквасці визначаються мікробіотою. Гомоферментативні молочнокислі бактерії – під час зброджування гексоз утворюють виключно молочну кислоту та ароматичні речовини (типовим представником є *L. casei*), а гетероферментативні молочнокислі бактерії (*L. brevis*), які утворюють до 72% молочної кислоти та 21% летких кислот (переважно оцтову) газ (переважно діоксин вуглецю) та незначну кількість спирту [11, с. 32].

Кислотоутворююча мікробіота густих спонтанних заквасок досить різноманітна. Панівними видами в них є *L. plantarum*, *L. brevis* та *L. fermentum*, в меншій кількості – *L. casei* та *L. buchneri*. Термофільний вид *L. leichmannii* виявляється дуже рідко. Для густих житніх заквасок характерно два види молочнокислих бактерій – *L. brevis* і *L. plantarum*, що пов'язано, очевидно, з температурним режимом ведення заквасок. Рідкі житні закваски за видовим складом кислотоутворюючої мікрофлори мало відрізняються від густих. У них виявляються ті ж види бактерій: *L. plantarum*, *L. brevis*, *L. fermentum*, *L. casei* та в поодиноких випадках *L. buchneri* та *L. delbrückii*. Температура за якої відбувається ведення рідких заквасок 32-35°C позитивно впливає розвиток саме цієї мікробіоти [12, с. 10–24].

Залежно від температури бродіння гетероферментативні молочнокислі бактерії продукують різну кількість кислот. Наприклад, за температури вище 30°C утворюється більше молочної кислоти, а за температури нижче 25°C – більше оцтової. На співвідношення молочної та оцтової кислот впливають також й інші чинники, такі, як вид та сорт борошна, вологість напівфабрикатів. Чим вища зольність борошна, тим більше утворюється оцтової кислоти (це пояснюється тим, що оцтова кислота утворюється під час зброджування ксилози, яка міститься в оболонках зерна), і лише гетероферментативними молочнокислими бактеріями. Під час збільшення вологості закваски збільшується активність гомоферментативних бактерій і, відповідно, інтенсивніше продукують молочну кислоту [13, с. 227–234; 14 с. 542].

Молочнокислі бактерії *L. sanfranciscensis* належать до гетероферментативних МКБ. В процесі бродіння вони утворюють молочну, леткі органічні кислоти, етанол і вуглекислий газ, екзополісахариди, протимікробні сполуки та ферменти [15, с. 180].

Попит на житні та житньо-пшеничні сорти хліба останнім часом збільшується, тому підприємства переходять на випуск цих сортів хліба. Ведення заквасок на підприємствах вимагає необхідного устаткування та час на оновлення. У зв'язку з вищевикладеним в даній роботі було проведено дослідження технології приготування житнього тіста з використанням різних видів молочнокислих бактерій, які надалі буде залучено до складу нової закваски для хліба з житнього борошна. Дослідження зі створення нових хлібопекарських заквасок для хліба з житнього борошна, які забезпечують високу якість продукції, є актуальними.

Постановка завдання. Для отримання високоякісного хліба з житнього борошна необхідно забезпечити кислотність тіста не нижче 12-14 град. Для досягнення такої кислотності хліб виробляють з використанням різних видів заквасок, що дозволяє помітно скоротити виробничий процес, збільшити терміни зберігання та надати заданої функціональності [16 с. 212].

Метою даної роботи є вивчення впливу різних штамів молочнокислих бактерій на біотехнологічні показники рідкої житньої закваски.

Для досягнення поставленої мети необхідно було розв'язати такі *завдання*:

дослідити вплив різних штамів молочнокислих бактерій на динаміку кислотоутворення та піднімальну силу закваски;

визначити кількість оновлення закваски для встановлення необхідних біотехнологічних параметрів закваски.

Для приготування закваски використовували різні штами молочнокислих бактерій (далі – МКБ) видів *Lactobacillus buchneri* (зразок 1), *L. brevis* (зразок 2), *L. fermentum* (зразок 3), *L. casei* (зразок 4), *L. plantarum* (зразок 5), борошно житнє обдирне, яке характеризувалося такими фізико-хімічними показниками: вологість – 11%, титрована кислотність 4,2 град, зольністю – 1%. Готували закваски вологістю 55-65%, поновлення проводили кожні 24 годин шляхом змішування закваски попереднього приготування з додаванням еквівалентної кількості поживної суміші з борошна та води та знову залишали на 8 годин за температури 25-26°C. Як контроль 1 вико-

ристовували закваску, до якої входили дріжджі *Saccharomyces cerevisiae*, Контроль 2 – на основі тільки борошна та води.

Молочнокислі бактерії культивували у такий спосіб: музейну культуру стерильно засівали у пробірку із не фільтрованим суслом (СР=12%), вирощували 24±2 год за t=32±2°C.

Для визначення піднімальної сили, титрованої кислотності, масової частки вологи та активності молочнокислих бактерій у заквасці застосовували загальноприйняті методи [17, с. 111–118], а саме: активність МКБ визначали за тривалістю знебарвлення метилового синього: низька активність 90-100 хв, висока активність 35-50 хв, дуже висока – 7-30 хв; титрована кислотність – визначали титрування розчином гідроксиду натрію; вологість – висушуванням на приладі Чижової до сталої маси за температури 160°C.

Виклад основного матеріалу досліджень. Суміш із борошна та води вводилася стабільно протягом усього часу виведення, після проведення кожного оновлення через 72, 96 і 120 год відповідно. Співвідношення води до борошна було постійним і становило 1:2.

Результати оцінки піднімальної сили заквасок за методом спливання кульки, вологості та титрованої кислотності представлені в таблиці 1.

Відомо, що у виробничому циклі якісна закваска повинна мати вологість 48-50%, кислотність 13-16 град. та піднімальну силу «за кулькою» до 25 хв.

Як видно з табл.1, кислотність у дослідних заквасках накопичуються інтенсивніше. І вже на 96 годину відновлення за даним показником закваски 2 та 3 можуть використовуватися у виробництві, а за показником піднімальної сили лише одну – зразок 2.

У всіх зразках на 48 год відновлення кислотність у 2,5 раза вища, ніж на перші 24 год.

Виявлено, що повільніше накопичувала кислотність закваска – це може означати низький потенціал утворення кислоти бактеріями *L. casei*.

Також в процесі оновлення заквасок нами контролювався показник піднімальної сили. Після першого оновлення у всіх закваски була відсутня піднімальна сила, а після 2-го відновлення, як видно з табл. 1, цей показник склав для окремих заквасок приблизно 50 хв. З кожним наступним відновленням показник піднімальної сили покращувався і на 120 годину відновлення для зразка 2 та контролю 1 приблизно 30 хв, а середньому зростала за кожен добу бродіння на 5-6 хв.

Було встановлено, що закваски вологістю 50-70% після кожного відновлення досягають кислотності 12 град в середньому через 24 год.

Органолептичні показники зразків всіх заквасок покращувались – з'явився приємний кисломолочний запах, у деяких зразках – взагалі був явно виражений запах кислої капусти з легким запахом органічних кислот, порівнюючи зі свіжими заквасками. Плісняви на поверхні жодної закваски не спостерігалося. Консистенція – в'язка, слизиста, пориста, що в даному випадку є важливим чинником у подальших технологічних стадіях приготування виробу.

У процесі дозрівання закваски здійснювали контроль активності МКБ. Активність молочнокислих бактерій у заквасках стабілізувалася на високому рівні на п'яту добу та становила 18-50 хв, за дотримання температурного режиму 23-25°C, без врахування контролю 2, у якого активність МКБ становила 80 хв, що можна пояснити нестабільною спонтанною мікробіотою. Найбільш активний розвиток молочнокислих бактерій (рис. 1) відбувається за поновлення закваски на 72-96 год бродіння.

У контролі 1, спостерігалася дещо гірша активність, чим у зразках із молочнокислими мікроор-

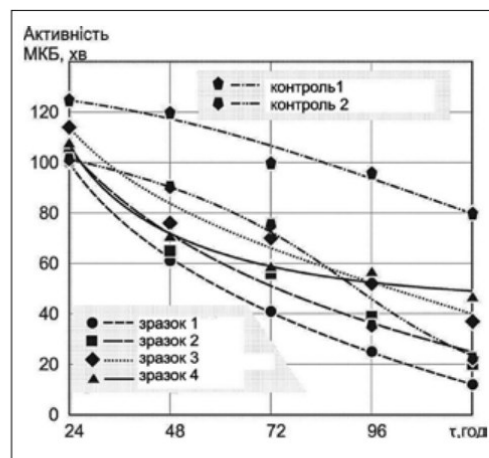


Рис. 1. Залежність активності молочнокислих бактерій від тривалості оновлення заквасок

ганізмами, а це свідчить про розвиток конкурентної мікробіоти у заквасках.

Як видно з даного малюнка активність МКБ почала зростати на 72 год бродіння, а на ще через 48 год після цього активність зразків до складу

Таблиця 1

Послідовність оновлення закваски

Показники	Зразок 1	Зразок 2	Зразок 3	Зразок 4	Контроль 1	Контроль 2
0 год						
Кислотність, град	5,7	5,2	6,2	3,3	4,9	0,99
Вологість, %	60,29	57,92	58,29	57,60	62,68	66,16
Піднімальна сила, хв.	відсутня	відсутня	відсутня	відсутня	відсутня	відсутня
24 год						
Кислотність, град	12,7	12,9	13,2	7,6	5,5	2,0
Вологість, %	57,64	56,10	65,84	58,19	58,39	66,91
Піднімальна сила, хв.	відсутня	відсутня	відсутня	відсутня	відсутня	відсутня
48 год						
Кислотність, град	12,8	11,3	11,6	6,9	4,6	2,4
Вологість, %	66,9	54,81	55,91	51,90	59,39	62,37
Піднімальна сила, хв.	52,0	42,0	відсутня	48,0	40,0	відсутня
72 год						
Кислотність, град	13,0	11,4	13,0	7,7	6,1	4,9
Вологість, %	56,75	55,55	58,86	55,94	61,6	64,70
Піднімальна сила, хв.	46,2	34,5	60,0	41,0	34,0	відсутня
96 год						
Кислотність, град	22,3	18,9	18,1	12,9	14,5	15,0
Вологість, %	59,2	62,3	54,45	57,54	64,0	62,3
Піднімальна сила, хв.	42,2	27,0	53,0	38,5	30,0	50,0
120 год						
Кислотність, град	22,6	18,3	20,4	16,6	16,8	17,4
Вологість, %	58,0	60,0	52,0	58,0	60,0	62,0
Піднімальна сила, хв.	38,0	25,0	50,0	36,0	31,0	48,0

Залежність показника активності МКБ від кислотності

Показник \ Закваска	Зразок 1	Зразок 2	Зразок 3	Зразок 4	Контроль 1	Контроль 2
Кислотність, град	22,6	18,3	20,4	16,6	16,8	17,4
Активність МКБ, хв.	18,0	20,0	37	47,4	22,0	80,0

яких входили заквашувальні культури активність була дуже висока та становила 15-25 хв.

Високу активність мали закваски 1,2-18,20 хв відповідно, що, ймовірно, пов'язано зі складом бродильної мікробіоти, а саме діяльністю гетероферментативних молочнокислих бактерій.

З таблиці 2 видно, активність МКБ у двох дослідних зразках 1 і 2 та контролі 1 становила приблизно 20 хв, що можна схарактеризувати як дуже висока активність МКБ. У контролі 2 активність МКБ була дуже низька і становила 80 хв, що можна пояснити низькою активністю спонтанної мікробіоти закваски. Додавання дріжджів до складу закваски сприяє активному росту кислотності, що надалі дасть змогу отримати тісто з високими підймальними властивостями.

Між активністю молочнокислих бактерій і кислотністю є не значний кореляційний зв'язок (коефіцієнт $r = -0,6$).

Отже, дослідження показали, що показники якості експериментальних заквасок стабілізува-

лися на високому рівні на п'яту добу за дотримання температурного режиму 23-25°C.

Висновки. Отже, використання чистих культур молочнокислих бактерій в кількості 3,0% від маси борошна за приготування першої фази циклу рідкої житньої закваски за загальноприйнятою технологією забезпечує отримання закваски з підйальною силою 20-25 хв і кислотністю до 22 град.

Стабільні біотехнологічні показники заквасок були отримані після четвертого оновлення, що дасть змогу надалі отримати хліб високої якості.

Встановлено, що в заквасках, приготовлених із використанням культури *Lactobacillus buchneri* сприяло поліпшенню підйальної сили заквасок та кислотності.

Показано, що закваски через 120 год зберігання мали більш виражений, як порівняти зі свіжими заквасками, аромат. Плісняви на поверхні жодної закваски не спостерігалося.

Список літератури:

1. Афанасьева О.В. Микробиологический контроль хлебопекарного производства. Москва : Пищевая промышленность. 1976. 142 с.
2. Кусова И.У. Закваски при производства ржаного хлеба. *Кондитерское хлебопекарское производство*. 2009. № 9. С. 24–26
3. Сарычев Б. Технология и биохимия ржаного хлеба. *Хлебопекарська і кондитерська промисловість України*. 2010. № 9. С. 5–7
4. Дробот В.І. Довідник з технології хлебопекарського виробництва : навч. посіб. для студ. вищ. навч. закл. Київ : Руслана. 1998. 416 с.
5. Rollan G., Geres C., Dallagnol A., Torino M., Font G. Update in bread fermentation by lactic acid bacteria. *Current research, technology and education, topics in applied microbiology and microbial biotechnology*. 2010. 8. P. 1168–1174.
6. Дробот В.І., Сильчук Т.А. Використання закваски спонтанного бродіння при виробництві житньо-пшеничного хліба. *Наукові праці НУХТ*. 2016. Т. 22, № 1. С. 180–184.
7. Матвеева І.В. Мікроінгредієнти і якість хліба. *Харчові інгредієнти. Сировина і добавки*. 2000. 1. С. 28–31.
8. Włodarczyk M. Associated cultures of lactic acid bacteria and yeasts in the industrial production of bread. *Acta Alim.* 1985. Pol 11. P. 345–359.
9. Аношкина Г. Производство хлеба из ржаной и смеси ржано-пшеничной муки. *Хлебопродукты*. 2001. 1. С. 23–25.
10. Sylchuk T.A., Kulinich VI, Sidorenko A.A. Application acidifiers the production of rye-wheat bread. *Bakery and confectionery industry Ukraine*. 2015. 5(126). С. 3–5.
10. Кузнецова Л. Технология и ассортимент ржаного хлеба. *Хлебопродукты*. 2005. 1. С. 32–33.
11. Gayathri A., Gayathri D. Antagonistic Potential of *Lactobacillus* Spp against Enteropathogenic Bacteria; Purification and Characterization of their Bacteriocins. *Advance J. of Food Science and Technology*. 2012. 4 (5). P. 265–269.

12. Афанасьева О.В. Технологические требования к микроорганизмам, применяемым в хлебопекарном производстве. Москва : Пищевая промышленность, 1976. 243 с.
13. Козьмина Н.П. Биохимия хлебопечения. Москва : Пищевая промышленность, 1971. 437 с.
14. Corsetti A, Settanni L Lactobacilli in sourdough fermentation. *Food Res Int.* 2007. 40(5). P. 539–558.
15. Gamze Yazar, Sebnem Tavman Functional and Technological Aspects of Sourdough Fermentation with *Lactobacillus sanfranciscensis*. *Food Eng Rev* 2012. № 4. P.171–190. DOI 10.1007/s12393-012-9052-1
16. Сильчук Т.А., Дробот В.І. Дослідження біотехнологічних властивостей тістових напівфабрикатів. *Наукові праці НУХТ.* 2017. Т. 23. № 1. С. 210–215.
17. Дробот В. І. Лабораторний практикум з технології хлібопекарського і макаронного виробництва. Київ : Центр навч. літератури, 2006. 341 с.

Hrushkovska A.O., Danylenko S.H., Kryzhska T.A., Khonkiv M.O. APPLICATION OF LACTIC ACID BACTERIA ON THE INDICATORS OF RYE SOURCE

*A method of making starter for rye bread with the addition of pure cultures of different species of lactic acid bacteria is adduced in this article. The growing process of bacteria is described and the quality parameters of ready starters are given, namely, sensorial and biotechnological ones. The specificity of changes in acidity, rising power, and activity of lactic acid bacteria as the main parameters of leaven quality in the process of renewal is studied. Factors influencing the activity of lactic acid bacteria were investigated, optimal fermentation parameters of yeast were chosen and comparative characteristics with control samples were given, namely, with spontaneous fermentation yeast and yeast with addition of *S. cerevisiae* yeast. Sensorial properties of yeast were characterized in the work. After 120 hours of storage, leaven had a more pronounced aroma than the fresh one. No mold was observed on the surface of leaven.*

*The leaven prepared with the use of *Lactobacillus buchmeri* culture was found to have better rates of rising power and acidity.*

*In the yeast grown with the addition of the *L. fermentum* culture on the 120th hour of renewing, the rising power was 50 minutes, along with the spontaneous fermentation yeast, which made it unsuitable for breeding (as yeast requires more than five updates).*

The use of lactic acid bacteria makes it possible to maintain and store the leaven in an active state. The final acidity and rising power of the leaven researched was 22 degrees and 25 minutes, respectively.

On the basis of the analysis of the biotechnological parameters of the leavens and their changes in the process of renewing, conclusions were drawn regarding their stability. The presence of stable strains of lactic acid bacteria and the expediency of their use in the composition of starters, which will allow obtaining products with proper sensorial and physicochemical quality parameters, are assumed.

Key words: flour, rye bread, lactic acid bacteria, leaven, activity, fermentation.

НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ АГРАРНИХ НАУК УКРАЇНИ
ІНСТИТУТ ПРОДОВОЛЬЧИХ РЕСУРСІВ

NATIONAL ACADEMY OF AGRICULTURAL SCIENCES OF UKRAINE
INSTITUTE OF FOOD RESOURCES



ПРОДОВОЛЬЧИ РЕСУРСИ
ЗБІРНИК НАУКОВИХ ПРАЦЬ

FOOD RESOURCES
COLLECTION OF SCIENTIFIC WORKS

№ 14

Kyiv – 2020

З М І С Т

1.	МЕХАНІЗМИ ЗАБЕЗПЕЧЕННЯ РЕАЛІЗАЦІЇ СТРАТЕГІЧНОГО ПОТЕНЦІАЛУ ПРОДОВОЛЬЧИХ СИСТЕМ <i>Сичевський М. П., Коваленко О. В., Куць О. І.</i>	7
ТЕХНІЧНІ НАУКИ		
2.	АДАПТАЦІЯ МЕТОДІВ ЕЛЕКТРОННОЇ СКАНУЮЧОЇ МІКРОСКОПІЇ ДЛЯ ДОСЛІДЖЕННЯ ПИЛКОВИХ ЗЕРЕН <i>Адамчук Л. О., Сухенко В. Ю., Скорик М. А.</i>	20
3.	ГІДРОДИНАМІЧНА УСТАНОВКА ДЛЯ ПРИГОТУВАННЯ ЖИРОВИХ ЕМУЛЬСІЙ <i>Берник І. М., Коц І. В., Бауман К. В.</i>	29
4.	ВПЛИВ БІОЛОГІЧНО АКТИВНИХ СПОЛУК НА СТАН ГЕМОВИХ ПІГМЕНТІВ М'ЯСА ПТИЦІ МЕХАНІЧНОГО ОБВАЛЮВАННЯ <i>Войцехівська Л. І., Охріменко Ю. І., Соколова С. Я., Клищева Т. Ю.</i>	35
5.	ВПЛИВ ТЕХНОЛОГІЧНОГО СЕРЕДОВИЩА НА СПРАЦЮВАННЯ ВАЛКОВИХ РОБОЧИХ ОРГАНІВ ФОРМУВАЛЬНИХ МАШИН <i>Гіджельський В. М., Стадник І. Я., Василів В. П., Кос Т. С.</i>	43
6.	СТЕРЕОХІМІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ ІНУЛІНІВ <i>Грушецький Р. І., Гріненко І. Г., Хомічак Л. М.</i>	52
7.	АКТУАЛЬНІ НАПРЯМКИ РОЗВИТКУ СПИРТОВОЇ ГАЛУЗІ В УМОВАХ ПРИВАТИЗАЦІЇ <i>Грушецький Р. І., Олійнічук С. Т., Данілова К. О.</i>	61
8.	НАУКОВЕ ОБГРУНТУВАННЯ НОВИХ ТЕХНОЛОГІЧНИХ ПРИЙОМІВ СТВОРЕННЯ БІОПРЕПАРАТІВ ДЛЯ ЗАГОТІВЛІ СИЛОСОВАНИХ КОРМІВ <i>Даниленко С. Г., Тетеріна С. М., Хоньків М. О.</i>	67
9.	ІММОБІЛІЗАЦІЯ МІКРООРГАНІЗМІВ ЯК ОДИН З НАПРЯМІВ РОЗВИТКУ БІОТЕХНОЛОГІЇ: ПЕРЕВАГИ, МЕТОДИ, НОСІЇ <i>Коваль О. О.</i>	80
10.	ВИЯВЛЕННЯ СТОРОННІХ ВКЛЮЧЕНЬ ЯК СКЛАДОВА СИСТЕМ НАССР У КОНДИТЕРСЬКОМУ ТА ХЛІБОПЕКАРСЬКОМУ ВИРОБНИЦТВІ <i>Копилова К. В., Вербицький С. Б., Кос Т. С., Козаченко О. Б., Вербова О. В.</i> ..	92
11.	ВИВЧЕННЯ ЗМІНИ КРОХМАЛЮ ЗА ПРОЦЕСУ МОДИФІКАЦІЇ БОРОШНА ПШЕНИЧНОГО <i>Кузнєцова І. В., Хомічак Л. М., Джоган О. І., Зайчук Л. П., Ткаченко С. В., Висоцька С. І.</i>	110
12.	ДОСЛІДЖЕННЯ В'ЯЗКОСТІ МОЛОЧНО-ЖИРОВИХ КОМПОЗИЦІЙ В ЗОНІ СТРУКТУРОУТВОРЕННЯ ПРИ ВИРОБНИЦТВІ СПРЕДІВ <i>Майборода Ю. В.</i>	118
13.	БІОЛОГІЧНА ЦІННІСТЬ СУХИХ МОЛОЧНИХ БАГАТОКОМПОНЕНТНИХ СУМІШЕЙ <i>Мінорова А. В., Рудакова Т. В., Крушельницька Н. Л., Наріжний С. А.</i>	125
14.	ВПЛИВ ТЕХНОЛОГІЧНИХ ФАКТОРІВ НА ПРОЦЕС ВИРОБНИЦТВА ТА ЯКІСТЬ ХЛІБА ЗІ СПЕЛЬТОВОГО БОРОШНА <i>Науменко О. В., Полонська Т. А., Гетьман І. А., Бела Н. І., Корольок К. Є., Богдан Г. С.</i>	137
15.	ВИКОРИСТАННЯ ГЛЮКОЗИ В ТЕХНОЛОГІЇ ВИРОБНИЦТВА НЕГЛАЗУРОВАНИХ ПОМАДНИХ ЦУКЕРОК <i>Онофрійчук О. С., Кохан О. О., Хомічак Л. М.</i>	145

**НАУКОВЕ ОБГРУНТУВАННЯ НОВИХ ТЕХНОЛОГІЧНИХ ПРИЙОМІВ
СТВОРЕННЯ БІОПРЕПАРАТІВ ДЛЯ ЗАГОТІВЛІ СИЛОСОВАНИХ КОРМІВ***Даниленко С. Г., д.т.н., с.н.с.**зав. відділу біотехнології*

Інститут продовольчих ресурсів НААН, м. Київ, Україна

ORCID ID: 0000-0003-4470-4643

*Тетеріна С. М., к.т.н., доцент,**кафедри біотехнології і мікробіології*

Національний університет харчових технологій, м. Київ, Україна

ORCID ID: 0000-0002-6258-1010

Хоньків М. О., магістрант,

Національний університет харчових технологій, м. Київ, Україна

пров. фах. відділу біотехнології

Інститут продовольчих ресурсів НААН, м. Київ, Україна

ORCID ID: 0000-0003-3875-3289

<https://doi.org/10.31073/foodresources2020-14-08>

В країнах з вологим кліматом та суворими зимами, впродовж яких або неможливо одержати зелені корми, або складно зберігати висушені корми, такі як сіно, потреба у забезпеченні поживними речовинами та енергією тварин задовольняється здійсненням заготівлі силосу. До таких регіонів відносять Європу (зокрема Україну), Північну Америку та тропічні регіони (зокрема, Бразилію). Ринок сучасних біопрепаратів для силосування характеризується переважним використанням багатокомпонентних бактеріальних складів. Проте, попри розвиток біотехнології, і наявний досвід в області силосування, досі залишається актуальним питання раціонального вибору складу комбінованих бактеріальних препаратів від необхідного профілю бродіння в сировині. Метою роботи було визначити основні передумови, та фактори, від яких залежить вибір складу біопрепарату для силосування, а також охарактеризувати основну мікробіоту, що використовується для створення бактеріальних композицій та описати механізми їх консервувального впливу. В ході дослідження використовувалися такі загальнонаукові методи дослідження, як аналіз, синтез, узагальнення, індукція та дедукція. Для відображення процесу формування знань в питанні бактеріальних препаратів використовувався історичний метод. Для висвітлення впливу вмісту сухих речовин на хімічні показники силосу було застосовано графічний метод. Джерелом літературних матеріалів були загальнодоступні науково-інформаційні ресурси: бази даних, наукові журнали та періодичні видання. В ході дослідження було охарактеризовано основну рослинну сировину, для одержання силосу і визначено найбільш універсальну рослинну культуру. Визначено основні параметри, що впливають на хімічний та мікробіологічний склад готового силосу. Наведено склад мікробіоти препаратів залежно від типу метаболізму, описано їх консервувальні властивості тощо. Результати направлені на застосування наведених у статті характеристик сировини та властивостей біологічних агентів в якості теоретичної основи для експериментальних досліджень при розробці біопрепаратів для силосування, та рекомендацій щодо раціонального вибору ефективних комерційних силосних препаратів в розрізі технології заготівлі кормів для тваринництва.

Ключові слова: силос, бактеріальний склад, біопрепарати, консервування зелених кормів

SCIENTIFIC SUBSTANTIATION OF NEW TECHNOLOGICAL METHODS OF DEVELOPMENT OF BIOPREPARATIONS FOR PRODUCTION OF ENSILAGE

*Danylenko Svitlana, D-r of Sciences, Technics, Senior Research
Head of Department of Biotechnology*

Institute of Food Resources of NAAS, Kyiv, Ukraine

ORCID ID: 0000-0003-4470-4643

Teterina Svitlana, pHd, Technics, associate professor

Department of Biotechnology and Microbiology,

National University of Food Technologies Kyiv, Ukraine

ORCID ID 0000-0002-6258-1010

Khonkiv Miroslav, postgraduate student,

National University of Food Technologies, Kyiv, Ukraine

Leading specialist of Department of Biotechnology

Institute of Food Resources of NAAS, Kyiv, Ukraine

ORCID ID: 0000-0003-3875-3289

<https://doi.org/10.31073/foodresources2020-14-08>

In countries with humid climates and harsh winters during which it is either impossible to obtain green feed, or it is difficult to store dried feed, such as hay, the need to provide nutrients and animal energy is satisfied by the implementation of silage. Such regions include Europe (in particular Ukraine), North America and tropical regions (in particular, Brazil). The market of modern biological preparations for silage is characterized by the predominant use of multicomponent bacterial compositions. However, despite the development of biotechnology, and the available experience in the field of ensilage, the question of the rational choice of the composition of combined inoculants from the necessary profile of fermentation in raw materials remains relevant. The work aimed to determine the main prerequisites and factors on which the choice of the composition of the biological product for silage depends, as well as to characterize the main microbiota used to create bacterial compositions and describe the mechanisms of their preserving effects. The study used such general scientific research methods as analysis, synthesis, generalization, induction, and deduction. To display the process of knowledge formation on the issue of bacterial preparations, the historical method was used. To illuminate the effect of dry matter on the chemical characteristics of the silo, a graphical method was used. The source of literary materials was publicly available scientific and informational resources: databases, scientific journals, and periodicals. During the study, the main plant material for silage was characterized and the most universal plant crop was determined. The main parameters that affect the chemical and microbiological composition of the finished silo are determined. The classification of silage microbiota depending on the type of metabolism is given and their preservative properties are described. The results are aimed at using the characteristics of raw materials and properties of biological agents presented in the article as a theoretical basis for experimental studies in the development of biologics for silage and recommendations for the rational selection of effective commercial silage inoculants in the context of animal feed procurement technology.

Key words: *silage, bacterial composition, combined biopreparation, canning green forages*

Постановка проблеми. Практика використання біопрепаратів для збереження рослинних кормів має численну кількість прикладів, що свідчать про велику розбіжність у принципах вибору їх ефективного складу залежно від умов їх застосування. Проте, мають значення не тільки обрані компоненти, а й те наскільки вони адаптовані до умов застосування. Саме від того, наскільки мікроорганізми здатні проявляти свої функції за різних умов залежить ефективність технології. До таких умов можна віднести властивості

рослинної сировини – хімічний склад, вологість, та конкуруюча епіфітна мікробіота. Саме тому, різноманіття сировини та її хімічного складу є найголовнішою причиною великої кількості варіацій біопрепаратів, що використовують в своєму складі культури з різним типом метаболізму задля забезпечення необхідного ефекту. Нині бракує експериментальних даних, що стосувалася б практики поєднання гомо- та гетероферментативного типів бродіння у комбінованих заквашувальних препаратах в залежності від обраної сировини. Більшість наявних досліджень стосуються лише кінцевих характеристик силосів, які одержані з використанням бактеріальних препаратів. Деякі з таких досліджень розглядають позитивні ефекти біопрепаратів. Наприклад, є повідомлення, що поєднання одного з трьох штамів – *Pediococcus acidilactici*, *Pediococcus pentosaceus* або *L. plantarum* в комбінації з *L. buchneri*, забезпечує аеробну стійкість силосу до враження дріжджами і грибами близько 500 годин (майже 21 день), тоді як цей показник у необробленого силосу становить всього 180 годин (близько 8 днів) [1]. Іншим прикладом такого позитивного результату є препарат на основі *L. buchneri*, *L. plantarum* і *L. casei*, застосування якого супроводжується швидким зниженням рН ячмінного силосу і досягнення оптимального значення вже за перші 5 днів бродіння [2].

Однак, існує значний масив опублікованих досліджень, що суперечать розглянутим вище твердженням [3], а взаємодія штамів у таких бактеріальних композиціях досі недостатньо вивчена, і механізм їх стабільного позитивного ефекту залишається невідомим [4]. Досить небагато вчених займаються комплексними дослідженнями з узагальненням силосної мікробіоти, складу бактеріальних препаратів на їх основі, та параметрів, що впливають на їх вибір. Автором більшості сучасних робіт, присвячених цьому питанню, є King [5]. З огляду на представлену інформацію, можна констатувати, що підбір біологічних агентів в складі силосних препаратів досі залишається актуальним.

Метою роботи було визначити основні передумови, та фактори, від яких залежить вибір складу біопрепарату для силосування, а також охарактеризувати основні види мікроорганізмів, що використовуються для створення бактеріальних композицій та описати механізм їх впливу на перебіг консервування.

Методологія проведення. В ході дослідження використовувалися такі загальнонаукові методи дослідження, як аналіз, синтез, узагальнення, індукція та дедукція. Для відображення процесу формування знань в питанні бактеріальних препаратів використовувався історичний метод. Для висвітлення впливу вмісту сухих речовин на хімічні показники силосу було застосовано графічний метод. Джерелом матеріалів досліджень були загальнодоступні науково-інформаційні ресурси: бази даних, наукові журнали та періодичні видання.

Результати дослідження. Вибір рослинної сировини для різних регіонів, в свою чергу, залежить від доступності різних типів рослин. Зокрема, силос з кукурудзи є основним кормом у Європі та Північній Америці [6]. Склад мікробної спільноти в такому силосі детально описали Tennant та ін. [7]. Згідно з проведеним ними метагеномним дослідженням, основна мікробіота кукурудзяного силосу представлена видами роду *Lactobacillus*. На їхню частку припадає 24% складу мікробіоти силосу. Зважаючи на домінування представників лактобацил, їх біотехнологічні властивості використовують для силосування. Інколи застосовують представників роду *Propionibacterium*, що кількісно складають 3% силосної мікробіоти [8].

Зважаючи на те, що для силосування використовуються молочнокислі бактерії, то основними ростовими субстратами для них в складі сировини є природні цукри – в основному це глюкоза та фруктоза, що містяться в клітинному соку рослин. Залежно від доступності та вмісту цих водорозчинних вуглеводів і залежить потенціал їх зброджування до органічних кислот. Зокрема, внаслідок накопичення молочної кислоти, в силосі збільшується концентрація іонів водню до рівня, при якому небажана мікробіота (в основному гнилісні та маслянокислі бактерії) гальмується в розвитку. Значення рН при якому пригнічуються ріст основних представників, що псують силос, а саме бактерій роду *Clostridium* та *Enterococcus* залежить від вмісту вологи та температури. Чим нижча вологість, тим більш критичним є вплив рН. Для анаеробної стабільності силосу при вмісті сухих

речовин 150, 250, 350 та 450 г/кг рослинної сировини необхідний рівень рН для забезпечення стабільності процесу становить 4,10, 4,35, 4,60 і 4,85 відповідно [9]. Проте, чим більший вміст водорозчинних вуглеводів в сировині тим більша ймовірність зараження силосу дріжджами і грибами, для пригнічення росту яких, молочна кислота і низький рівень рН не дієві.

Пліснява в силосі представлена деякими видами родів *Fusarium* і *Alternaria*; *Aspergillus flavus* і *Aspergillus parasiticus*; формами, які є ендоефітними симбіонтами в травах або злаках, такі як *Claviceps* і *Neotyphodium species*; формами, які розвиваються в силосі без контролювання його біохімічних показників, наприклад *Penicillium roqueforti* та *Penicillium paneum*, *Aspergillus fumigatus*, *Monascus ruber*, *Byssochlamys nivea*, *Rhizopus nigricans* і *Chrysonilia sitophila* [7]. Остання група найчастіше зустрічається під час зберігання силосу, і зазвичай виникає внаслідок його аеробного псування [7]. Тож вибір характеру бродіння в сировині, обирається, перш за все, зважаючи на хімічні показники рослинної сировини, що піддають силосуванню. Будь-який тривалий контакт силосної маси з повітрям, призводить до того, що дріжджі (наприклад *Candida*, *Endomycopsis*, *Hansenula*, *Pichia*) розщеплюють молочну кислоту на вуглекислий газ і воду, продукуючи надмірну кількість тепла (процес зігрівання силосу), призводить до втрати поживних речовин тощо [8]). Деградація молочної кислоти також підвищує рН силосу до рівня, який дозволяє опортуністичним бактеріям (наприклад, *Bacillus*) і плісені (наприклад, *Aspergillus*, *Fusarium* і *Penicillium*) активно розвиватися і у подальшому погіршувати якість силосу.

Поживна цінність кукурудзяного силосу залежить від гібриду, щільності розташування рослин, умов вирощування, ступеня зрілості та вологості врожаю при збиранні [8]. Серед рослинних культур, що використовуються для силосування, кукурудза різко відрізняється найвищим, серед них, вмістом розчинних вуглеводів (280–510 г/кг сухих речовин [10]). Фізичні характеристики, такі як середній розмір частинок і щільність, безпосередньо пов'язані з характером бродіння та його поширенням в силосі, а аеробна стійкість є головним фактором, який визначає якість корму. Виробництво силосу з низькою щільністю, через великий середній розмір частинок, призводить до підвищення пористості та інфільтрації повітря через силос, тобто до активізації та розвитку аеробних мікроорганізмів, внаслідок чого значно знижуються кормові властивості [11].

В огляді Kung [5], показано, що значення рН для кукурудзяного силосу варіюється в межах від 3.9 од. до 5.4 од., при чому, простежується ЦО ж стосується інших параметрів, закономірність росту кислотності за збільшення вмісту сухих речовин в зразках кукурудзяного силосу від 25 до 80% (рис.1), то вміст органічних кислот також зменшується відносно концентрації сухих речовин (рис. 2.).

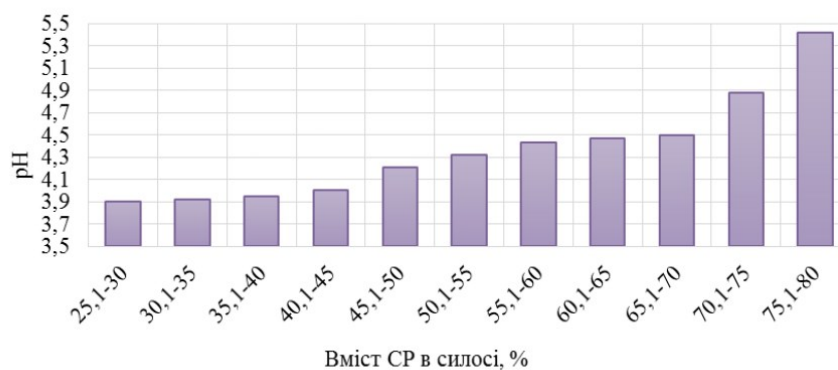


Рис. 1. Рівень рН для кукурудзяного силосу з різним вмістом сухих речовин [5]

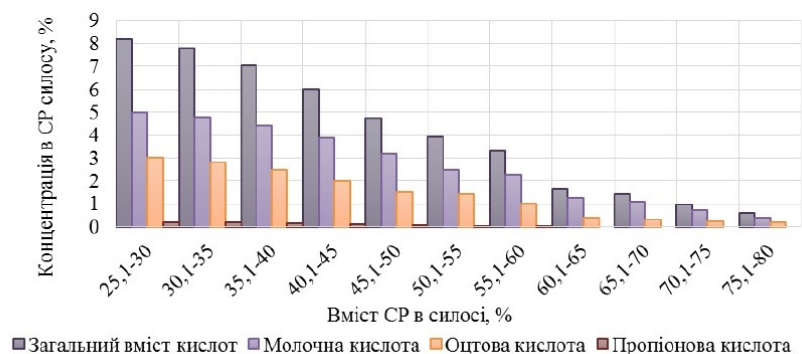


Рис.2. Рівні накопичення продуктів бродіння в кукурудзяному силосі з різним вмістом сухих речовин [5]

Люцерна – це кормова культура, багата білками. Однак з неї складно одержати силос гарної якості через низький вміст вуглеводів, що зброджуються (4-20 г/кг сухих речовин [12]), високу буферну здатність та трубчасте порожнисте стебло, що гальмує повне видалення повітря під час силосування [11].

Для посушливих та напівсухих кліматичних регіонів є важливим кормове сорго, що добре адаптується до навколишнього середовища з обмеженими опадами, високими температурами та низькою родючістю ґрунту. Кормове сорго використовує воду набагато ефективніше, ніж кукурудза, має більш високий вихід біомаси під час впливу посухи і дає прийнятні обсяги силосу [13]. Вміст розчинних вуглеводів для солодкого кормового сорго складає 180-250 г/кг сухих [12], а для зернового – 56-132 г/кг сухих речовин [12].

Наступною за популярністю сировиною є райграс. Використання райграсу для силосування здійснюють у переважній більшості Європейських країн і у північній частині Африки. Вміст розчинних вуглеводів, залежно від умов вирощування, дуже неоднорідний і варіює в межах 5-220 г/кг [12].

Трави теплої пори року, наприклад слонова трава, мають низькі концентрації розчинних вуглеводів та високу буферну здатність. Як наслідок, процес бродіння відбувається малоефективно, що знижує ймовірність одержання високоякісного силосу [15].

Таким чином, вибір характеру бродіння в сировині здійснюють, насамперед, зважаючи на хімічні показники рослинної сировини, що піддають силосуванню [15].

Отже, найбільш універсальною сировиною для силосування є кукурудза, яка має вищий вміст водорозчинних вуглеводів, буферну здатність та кормову цінність. Це в свою чергу спрямовує ринок біопрепаратів на їх застосування для одержання високоякісного кукурудзяного силосу.

В розробці комбінованих препаратів для силосування можна виділити два підходи.

Бактеріальні біопрепарати. Дослідження комбінованих препаратів першого типу почалися з роботи нідерландських вчених Driehuis та ін. [16], в якій повідомляється, що внаслідок використання комбінації гомоферментативних культур *Pediococcus pentosaceus* і *Lactobacillus plantarum* з гетероферментативною культурою *L. buchneri*, збільшується аеробна стабільність силосу, вміст молочної кислоти, та значно зменшується рН, разом з втратами сухих речовин порівняно з монокультурами.

В Україні, як і за кордоном, всі препарати є гетерогенними за складом і властивостями. Наявна велика кількість досліджень присвячених дослідженню якості силосу, отриманих з застосуванням комбінованих бактеріальних препаратів, проте їх ефективність постійно доповнюється новими даними [17-20]. Зокрема, на ринку є вітчизняні біопрепарати «Сінсил-ТІММ», та «Сеносіл», розроблені відділом біотехнології Інституту продовольчих ресурсів

НААН, на основі гомо- и гетероферментативних молочнокислих і пропіоновокислих бактерій – *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* biovar *diacetilactis*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus acidophilus*, *L. plantarum*, *L. brevis*, *L. rhamnosus*, *L. paracasei* ssp. *paracasei*, *Propionibacterium freudenreichii* subsp. *shermanii*. Використання цих комбінованих біопрепаратів є ефективним, забезпечуючи покращення хімічних та мікробіологічних показників кукурудзяного силосу [21, 22].

Бактеріально-ферментні біопрепарати. Цей підхід має на меті розщеплення складних полімерних вуглеводів, таких як целюлоза, геміцелюлоза, лігнін на мономерні складові завдяки каталізу амілолітичних ферментів, внаслідок чого спостерігається підвищення доступності субстрату для бродіння бактеріальною складовою препарату. В Україні препаратом такого типу є «Літосил-плюс», до складу якого входять культури *Streptococcus faecium*, *Lactobacillus salivarius* та *L. casei*, а також ферментний комплекс (целюлоза, пектиназа, бета-глюканаза, ксиланаза). В дослідженнях Сироватко [23] і Курнаєва [24] застосування цього препарату на силосі з люцерни показало ефективність в збереженні сухих речовин та протеїну за одночасного зниження вмісту клітковини, та покращеного співвідношення органічних кислот. Закордонний досвід представлений препаратами Lactacel L, що містить штами *L. plantarum* С ККР/788/р, *L. plantarum* К ККР/593/р, *L. brevis* ККР 839, *L. buchnerii* ККР/907/р та комплекс кормових ферментів (переважно глюкоамілазу), Feedtech F18 (*L. plantarum* (NCIB 30083, 30084), *Pediococcus acidilactici* (NCIB 30085, 30086), целюлаза), Josilac (*L. plantarum* (DSM No 11672), *P. acidilactici* (DSM No 11673), целюлаза), які також забезпечують необхідну якість силосу [17, 18].

Силосна мікробіота представлена декількома типами бродильного метаболізму. Зокрема, за анаеробних умов в цій мікробній спільноті переважають процеси молочнокислого та пропіоновокислого бродіння. Метаболіти, що утворюються, мають високу антибактеріальну та антигрибкову активність та забезпечують необхідне консервування силосу. За використання комбінованих бактеріальних препаратів в силосванні, як і у ході природного процесу, характерним є взаємодія бактеріальних культур в сировині, що і визначає її кінцеву якість. Для опису цієї взаємодії спочатку необхідно розуміти основні властивості різних представників окремо. В залежності від профілю бродіння бактерії, що використовуються, поділяють на молочнокислі бактерії, з облігатно гомоферментативним, облігатно або факультативно гетероферментативним типом бродильного метаболізму, а також на пропіоновокислі бактерії.

Гомоферментативні молочнокислі бактерії. Довгий час до того, як було встановлено різницю в метаболізмі між групами облігатно гомоферментативних та факультативно гетероферментативних молочнокислих бактерій їх об'єднували просто під назвою гомоферментативних [25]. Найбільше описані, та найчастіше використовуються лише декілька їх представників – *Lactobacillus plantarum*, *L. acidophilus*, *L. casei*, *L. rhamnosus*, *Enterococcus faecium*, *P. acidilactici*, *P. pentaceus*. Всі перелічені представники характеризуються як найкращі кислотоутворювачі. Це пояснюється швидким продукуванням переважно одного метаболіту в навколишнє середовище, а саме молочної кислоти. В умовах конкуренції за легкодоступні вуглеводи в гетерогенній спільноті силосу, збільшення вмісту молочної кислоти спричиняє зниження рН середовища, що дає перевагу в домінуванні гомоферментативних бактерій. Проте, за постійного зниження рН, активність домінуючих бактерій також поступово знижується, і за значень близько 4,0-4,2 од. ферментативні реакції зупиняються. Однак в межах своєї групи, ці представники відрізняються і за швидкістю росту – *Enterococcus* > *Pediococcus* > *Lactobacillus*. З іншого боку, педіококи мають ширший діапазон оптимальної температури та рН для росту [26].

Окрім консервуючого впливу молочної кислоти, гомоферментативні бактерії мають ряд інших метаболітів, які проявляють антагонізм проти небажаної мікробіоти. Зокрема, останнім часом дослідники знаходять активні штами-продуцентів бактеріоцинів. Починаючи з 2000 року з різної сировини виділялися штами *L. plantarum* зі здатністю до синтезу антигрибкових речовин. Першими в своїй роботі Lavermicossa та ін. [27] виявили в хлібній

заквасці штаму *L. plantarum* 21В з високою антигрибковою активністю. Зокрема, при сумісному культивуванні штаму успішно інгібував багатьох представників грибів родів *Eurotium*, *Penicillium*, *Endomyces*, *Aspergillus*, *Monilia* та *Fusarium*. При хімічному аналізі культуральної рідини було виявлено високу концентрацію фенілактату. В наступному дослідженні Strom та ін. [28], з трав'яного силосу виділили та ізолювали штаму *L. plantarum* MiLAB 393. Характерним для цього штаму є синтез окрім 3-феніллактату, циклічних дипептидів з антигрибковою активністю, таких як цикло(L-фенілаланін–L-пролін) та цикло(L-фенілаланін-транс-4-ОН–L-пролін). Найбільша чутливість до цих сполук була у грибів *Fusarium sporotrichioides*, *Aspergillus fumigatus* і дріжджів *Kluyveromyces marxianus*. З досліджень Dieuleveux та співавт. [29-31] можна оцінити і антибактеріальну активність 3-феніллактату, зокрема в ньому показано інгібування ряду як грампозитивних бактерій – *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Bacillus cereus*, так і грамнегативних, таких як *Salmonella enterica*, *Escherichia coli*, *Providencia stuartii*, *Klebsiella oxytoca*.

Наявність подібних сполук є важливим в забезпеченні активної боротьби з сторонньою мікробіотою як в анаеробних так і в аеробних умовах, проте знайти і виділити з природних умов штами зі здатністю продукувати бактеріоцини в достатніх концентраціях дуже складно. Так, в деяких дослідженнях [32, 33] повідомляється про зниження аеробної стійкості за використання гомоферментативних молочнокислих бактерій. Вчені пов'язують цей ефект з малими концентраціями оцтової кислоти, яка є сильним антигрибковим агентом, та високими концентраціями молочної кислоти, яка в аеробних умовах є гарним ростовим субстратом для дріжджів.

Гетероферментативні молочнокислі бактерії. Наступна група молочнокислих бактерій представлена облигатно гетероферментативними бактеріями. В літературі серед представників цієї групи переважно можна знайти *L. buchneri*, дещо рідше *L. brevis*, *L. diolivorans*, *L. hilgardii*, *L. kefirii*, *L. parafarraginis*. Відмінність облигатно-від факультативно-гетероферментативних в тому, що оцтова кислота утворюється не лише в фосфокетоглазному шляху, а і при додатковому окисненні лактату в анаеробних умовах. Додатково лактат окислюється до 1,2-пропандіолу. До подальшого перетворення 1,2-пропандіолу здатні види *L. diolivorans* та *L. reuteri*, зокрема, перший метаболізує його до 1-пропанолу та пропіонової кислоти, а другий до пропіональдегіду та пропіонової кислоти [34]. Всі наведені вище сполуки включаючи оцтову кислоту та 1,2-пропандіол володіють широким спектром бактеріцидної та фунгіцидної активності. Використанням цієї особливості характеризується застосування гетероферментативних видів для підвищення стійкості силосу за аеробних умов. Найкраще описано вплив гетероферментативного метаболізму *L. buchneri* на бродіння сировини за мета-аналізу проведеного Kleinschmit і Kung [35]. В цьому дослідженні аналізувалися 43 експерименти з цією культурою в силосі з кукурудзи та трави. Одержані результати показали, що обробка *L. buchneri* в порівнянні з необробленим кукурудзяним силосом призводить до підвищення рН, за рахунок зміни співвідношення молочної та оцтової кислот 3:1 в необробленому силосі до близько 2,3:1 та 1,3:1 для низької та високої дози інокуляції відповідно. Щодо трав'яного силосу, то співвідношення від 5,3:1 для необробленого силосу знизилося до 0,8:1 та 0,6:1 для тих самих доз. Щодо споживання водорозчинних вуглеводів, то для кукурудзяного силосу їх вміст в необробленому силосі, та обробленому низькою і високою дозою *L. buchneri* в середньому зменшується на 3,8 та 14,8% відповідно. Для силосу з трав ці втрати є більшими, і становлять 34,6 та 53,8%. Такі втрати пояснюються окрім продукування молочної кислоти додатково оцтової, 1,2-пропандіолу та виділення значної кількості CO₂. Проте, попри втрати за анаеробних умов, в цьому дослідженні встановлено, що інокуляція *L. buchneri* значно зменшує вміст дріжджів та тим самим підвищує аеробну стійкість силосу. Було встановлено що значення аеробної стійкості інокульованого кукурудзяного силосу зросло порівняно з необробленим від 25 до 503 год, а для трав'яного – з 206 до 245 год. Ці результати знову підтверджують думку, що для кожної сировини необхідно підбирати свій оптимальний склад

препаратів для силосування та дози складових, які не будуть зменшувати поживну цінність певного силосу.

Як і гомоферментативні лактобацили, гетероферментативні види також знатні до синтезу бактеріоцинів. Так є декілька досліджень в яких *L. hilgardii* і *L. diolivorans* здатні до синтезу пептидів з протигрибковою активністю. Згідно з дослідженням Valerio та ін. [36] *L. hilgardii* здатен до синтезу фенілактату та 4-гідроксифенілактату.

Варто додати, що через невисоку швидкість росту та кислотоутворення гетероферментативні молочнокислі бактерії в силосі мають переваги за умов, коли активність всієї мікробіоти, включаючи гомоферментативних молочнокислих бактерій знижується, адже за рахунок свого метаболізму гетероферментативні лактобацили мають механізми стійкості до високої кислотності в анаеробних умовах.

Пропіоновокислі бактерії. Для покращення стійкості до аеробної деградації силосу використовуються і види *Propionibacterium*. Як і в випадку з багатьма видами гетероферментативних молочнокислих бактерій, механізм захисту пропіоновокислих бактерій полягає в синтезі пропіонової та оцтової кислот. Представники цього роду здатні ферментувати глюкозу та лактат [37]. Проте для них, порівняно з лактобактеріями, пропіонова кислота є основним метаболітом, саме тому їх використовують замість додавання екзогенної пропіонової кислоти [38]. Найпоширенішими представниками, що застосовувалися, є *P. acidipropionici* та *P. shermanii*. Зазначається [16], що пропіоновокислі бактерії погано переносять умови з низьким рівнем рН і мають повільний ріст. Згідно з цим, очікувати ефект від їх додавання можна лише на перших стадіях, коли рН силосу тільки починає спадати, і пропіонова кислота необхідна для ефективної боротьби з дріжджами та плісінню, до того часу, поки не встановляться повністю анаеробні умови.

Найбільш вдалі композиції створюються на основі поєднання декількох з наведених типів метаболізму. Зокрема, щоб визначити які бактеріальні види мають входити до препарату, перш за все мають бути визначені хімічні показники сировини та природня мікробіота силосу. В разі підвищених концентрацій збудників бактеріального псування сировини, найбільш ефективно розробляти склад на основі активних кислотоутворюючів, тоді ж як дріжджове та грибокве забруднення потребує широкого спектру метаболітів з сильними антимікробними властивостями. Високий вміст водорозчинних вуглеводів разом з високою буферною ємністю силосу потребують використання гетероферментативного молочнокислого або/та пропіоновокислого профілю бродіння. Розвиток представників цих метаболізмів призводить до збільшення споживання вуглеводів в процесі силосування, проте на відміну від гомоферментативних молочнокислих бактерій, одночасно дозволяє використати штами менше залежних від рівню рН та більш ефективних механізмів пригнічення сторонньої мікробіоти силосу.

Висновок. Підсумовуючи, варто зазначити, що вибір складу біопрепарату залежить, перш за все, від характеристики сировини – вологості, вмісту водорозчинних вуглеводів, буферної ємності, а також регіону вирощування. Після аналізу сировини бактеріальна композиція підбирається в залежності від бажаного профілю бродіння, яка забезпечить необхідну якість силосу. Більшість з комерційних біопрепаратів для силосування, що представлені на ринку, дуже часто невдало обирають за своїми властивостями до умов застосування, внаслідок чого їх ефективність значно знижується. Вибір правильної комбінації особливостей біологічних агентів спрямовано на збереження цінних поживних речовин як в анаеробних умовах, так і в аеробних, здійснюючи головним чином пригнічення сторонньої мікробіоти, внаслідок чого силос зберігається тривалий термін.

Бібліографія

1. Reich L. J., Kung L. Jr. Effects of combining *Lactobacillus buchneri* 40788 with various lactic acid bacteria on the fermentation and aerobic stability of corn silage. Anim. Feed Sci. Technol. 2010. Vol. 159, №3-4. P. 105-109.

2. Addah W., Baah J., Okine E. K., McAllister T. A. A third-generation esterase inoculant alters fermentation pattern and improves aerobic stability of barley silage and the efficiency of body weight gain of growing feedlot cattle. *J. Anim. Sci.* 2012. Vol. 90, № 5. P. 1541-1552.
3. Thomas M. E., Foster J. L., McCuiston K. C., et al. Nutritive value, fermentation characteristics, and in situ disappearance kinetics of sorghum silage treated with inoculants. *J. Dairy Sci.* 2013. Vol. 96, № 11. P. 7120-7131.
4. Rabelo C. H. S., Härter C. J., Ávila C. L. S., Reis R. A. Metaanalysis of the effects of *Lactobacillus plantarum* and *Lactobacillus buchneri* on fermentation, chemical composition and aerobic stability of sugarcane silage. *Grassl. Sci.* 2019. Vol. 65, № 1. P. 3-12.
5. Kung Jr L., Shaver R. D., Grant R. J., Schmidt R. J. Silage review: Interpretation of chemical, microbial, and organoleptic components of silages. *Journal of dairy Science.* 2018. Vol. 101, № 5. P. 4020-4033.
6. Borreani G., Tabacco E. The relationship of silage temperature with the microbiological status of the face of corn silage bunkers. *Journal of Dairy Science.* 2010. Vol. 93, № 6. P. 2620-2629.
7. Tennant R. K., Sambles C. M., Diffey G. E., et al. Metagenomic Analysis of Silage. *J. Vis. Exp.* 2017. №119. e54936. <https://doi.org/10.3791/54936>.
8. Satter L. D., Reis R. B. Milk production under confinement conditions. 2012. US Dairy Forage Research Center, USDA-ARS and Dairy Science Department. University of Wisconsin, Madison, Wisconsin, USA.
9. Jonsson A. Growth of *Clostridium tyrobutyricum* during fermentation and aerobic deterioration of grass silage. *Journal of the Science of Food and Agriculture.* 1991. Vol. 54, № 4. P. 557-568.
10. Sebata A. An Insight into Current and Future Production of Forage Crops in Zimbabwe. *New Perspectives in Forage Crops.* 2018. P. 89-104.
11. Silva M. S. J. D., Jobim C. C., Poppi E. C., et al. Production technology and quality of corn silage for feeding dairy cattle in Southern Brazil. *Revista Brasileira de Zootecnia.* 2015. Vol. 44, № 9. P. 303-313.
12. Maasdorp B. V. Titterton M. The use of planted trees for fodder. Proceedings of workshop on Livestock Production Research in the Semi-Arid Tropics, held by Department for International Development (DFID), Matopos, Zimbabwe. February 1999. Smith, T. (Ed.). 2000.
13. Amer S., Seguin P., Mustafa A. F. Effects of feeding sweet sorghum silage on milk production of lactating dairy cows. *Journal of dairy science.* 2012. Vol. 95, № 2. P. 859-863.
14. Rodrigues A. L. P. et al. In situ dry matter degradation of tropical forages harvested at different ages. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* 2004. Vol. 56, № 5. P. 658-664.
15. Yitbarek M. B., Tamir B. Silage additives. *Open Journal of Applied Sciences.* 2014. Vol. 4, № 5. P. 258-274. <https://doi.org/10.4236/ojapps.2014.45026>.
16. Driehuis F., Oude Elferink S. J. W. H., Van Wixselaar P. G. Fermentation characteristics and aerobic stability of grass silage inoculated with *Lactobacillus buchneri*, with or without homofermentative lactic acid bacteria. *Grass and Forage Science.* 2001. Vol. 56, № 4. P. 330-343.
17. Seppälä A., Heikkilä T., Mäki M., Rinne M. Effects of additives on the fermentation and aerobic stability of grass silages and total mixed rations. *Grass and forage Science.* 2016. Vol. 71, № 3. P. 458-471.
18. Wrobel B., Zielinska K. J., Fabiszewska A. U. The effect of biological additives on aerobic stability of silages from meadow sward intended for feeding and energy production. *Journal of Research and Applications in Agricultural Engineering.* 2017. Vol. 62, № 4. P. 205-210.
19. Herrmann C., Idler C., Heiermann M. Improving aerobic stability and biogas production of maize silage using silage additives. *Bioresource Technology.* 2015. Vol. 197. P. 393-403.

20. Markovic J., Blagojevic M., Kostic I., et.al. Effect of bacterial inoculants application and seeding rate on common vetch-oat silage quality. *Biotechnology in Animal Husbandry*. 2019. Vol. 34, № 2. P. 251-257.
21. Даниленко. С. Г., Хоньків М. О., Іскра К. О. Лактобактерії для силосування рослинної сировини. *Аграрна наука та харчові технології*. 2019. Вип. 108, №5, т.1. С.3-12.
22. Сычевский Н. П., Копылова К. В., Даниленко С. Г. Эффективность препарата «Сеносил» для консервирования силоса. *Зернові продукти і комбікорми*. 2016. Вип. 63, № 3. С.16-21.
23. Сироватко К. М. Вплив біологічного консерванту на якість та продуктивну дію сінажу. *Аграрна наука та харчові технології*. Вінниця, 2017. Вип.1, № 95. С. 90-96.
24. Курнаев О. Якість та енергетична поживність люцернового силосу при застосуванні бактеріально-ферментного препарату. *Тваринництво України*. 2015. № 4. С. 40-42.
25. Pahlow G., Muck R. E., Driehuis F., et.al. Microbiology of ensiling. *Silage science and technology*. 2003. Vol. 42. P. 31-93.
26. Kung Jr. A Review on Silage Additives and Enzymes. Department of Animal and Food Sciences University of Delaware. Newark. 2003.
27. Lavermicocca P., Valerio F., Evidente A., et.al. Purification and Characterization of Novel Antifungal Compounds from the Sourdough *Lactobacillus plantarum* Strain 21B. *Applied and Environmental Microbiology*. 2000. Vol. 66, № 9. P. 4084-4090.
28. Ström K., Sjögren J., Broberg A., Schmirer J. *Lactobacillus plantarum* MiLAB 393 produces the antifungal cyclic dipeptides cyclo (L-Phe-L-Pro) and cyclo (L-Phe-trans-4-OH-L-Pro) and 3-phenyllactic acid. *Appl. Environ. Microbiol.* 2002. Vol. 68, № 9. P. 4322-4327.
29. Dieuleveux V., Gueguen M. Antimicrobial effects of D-3- phenyllactic acid on *Listeria monocytogenes* in TSB-YE medium, milk, and cheese. *J. Food Prot.* 1998. Vol. 61. P. 1281-1285.
30. Dieuleveux V., Lemarinier S., Gueguen M. Antimicrobial spectrum and target site of D-3-phenyllactic acid. *Int. J. Food Microbiol.* 1998. Vol. 40. P. 177-183.
31. Dieuleveux V., Van Der Pyl D., Chataud J., Gueguen M. Purification and characterization of anti-*Listeria* compounds produced by *Geotrichum candidum*. *Appl. Environ. Microbiol.* 1998. Vol. 64. P. 800-803.
32. Weinberg Z. G., Ashbell G., Hen Y., Azrieli A. The effect of applying lactic acid bacteria at ensiling on the aerobic stability of silages. *J. Appl. Bacteriol.* 1993. Vol. 75. P. 512-518.
33. Danner H., Holzer M., Mayrhuber E., Braun R. Acetic acid increases stability of silage under aerobic conditions. *Appl. Environ. Microbiol.* 2003. Vol. 69. P. 562-567.
34. Zielinska K., Fabiszewska A., Swiątek M., Szymanowska-Powałowska D. Evaluation of the ability to metabolize 1,2-propanediol by heterofermentative bacteria of the genus *Lactobacillus*. *Electron. J. Biotechnol.* 2017. Vol. 26. P. 60-63.
35. Kleinschmit D. H., Kung Jr. L. A meta-analysis of the effects of *Lactobacillus buchneri* on the fermentation and aerobic stability of corn and grass and small-grain silages. *Journal of dairy Science*. 2006. Vol. 89, № 10. P. 4005-4013.
36. Valerio F., Lavermicocca P., Pascale M., Visconti A. Production of phenyllactic acid by lactic acid bacteria: an approach to the selection of strains contributing to food quality and preservation. *FEMS microbiology letters*. 2004. Vol. 233, № 2. P. 289-295.
37. Moon N.J. Inhibition of the growth of acid tolerant yeasts by acetate, lactate and propionate and their synergistic mixtures. *J. Appl. Bacteriol.* 1983. Vol. 55. P. 454-460.
38. Arriola K. G., Kim S. C., Adesogan A. T. Effect of applying inoculants with heterolactic or homolactic and heterolactic bacteria on the fermentation and quality of corn silage. *Journal of dairy science*. 2011. Vol. 94, № 3. P. 1511-1516.

References

1. Reich L. J., Kung L. Jr. Effects of combining *Lactobacillus buchneri* 40788 with various lactic acid bacteria on the fermentation and aerobic stability of corn silage. *Anim. Feed Sci. Technol.* 2010. Vol. 159, №3-4. P. 105-109.
2. Addah W., Baah J., Okine E. K., McAllister T. A. A third-generation esterase inoculant alters fermentation pattern and improves aerobic stability of barley silage and the efficiency of body weight gain of growing feedlot cattle. *J. Anim. Sci.* 2012. Vol. 90, № 5. P. 1541-1552.
3. Thomas M. E., Foster J. L., McCuiston K. C., et.al. Nutritive value, fermentation characteristics, and in situ disappearance kinetics of sorghum silage treated with inoculants. *J. Dairy Sci.* 2013. Vol. 96, № 11. P. 7120-7131.
4. Rabelo C. H. S., Härter C. J., Ávila C. L. S., Reis R. A. Metaanalysis of the effects of *Lactobacillus plantarum* and *Lactobacillus buchneri* on fermentation, chemical composition and aerobic stability of sugarcane silage. *Grassl. Sci.* 2019. Vol. 65, № 1. P. 3-12.
5. Kung Jr L., Shaver R. D., Grant R. J., Schmidt R. J. Silage review: Interpretation of chemical, microbial, and organoleptic components of silages. *Journal of dairy Science.* 2018. Vol. 101, № 5. P. 4020-4033.
6. Borreani G., Tabacco E. The relationship of silage temperature with the microbiological status of the face of corn silage bunkers. *Journal of Dairy Science.* 2010. Vol. 93, № 6. P. 2620-2629.
7. Tennant R. K., Sambles C. M., Diffey G. E., et.al. Metagenomic Analysis of Silage. *J. Vis. Exp.* 2017. №119. e54936. <https://doi.org/10.3791/54936>.
8. Satter L. D., Reis R. B. Milk production under confinement conditions. 2012. US. Dairy Forage Research Center, USDA-ARS and Dairy Science Department. University of Wisconsin, Madison, Wisconsin, USA.
9. Jonsson A. Growth of *Clostridium tyrobutyricum* during fermentation and aerobic deterioration of grass silage. *Journal of the Science of Food and Agriculture.* 1991. Vol. 54, № 4. P. 557-568.
10. Sebata A. An Insight into Current and Future Production of Forage Crops in Zimbabwe. *New Perspectives in Forage Crops.* 2018. P. 89-104.
11. Silva M. S. J. D., Jobim C. C., Poppi E. C., et.al. Production technology and quality of corn silage for feeding dairy cattle in Southern Brazil. *Revista Brasileira de Zootecnia.* 2015. Vol. 44, № 9. P. 303-313.
12. Maasdorp B. V. Titterton M. The use of planted trees for fodder. *Proceedings of workshop on Livestock Production Research in the Semi-Arid Tropics, held by Department for International Development (DFID), Matopos, Zimbabwe. February 1999. Smith, T. (Ed.).* 2000.
13. Amer S., Seguin P., Mustafa A. F. Effects of feeding sweet sorghum silage on milk production of lactating dairy cows. *Journal of dairy science.* 2012. Vol. 95, № 2. P. 859-863.
14. Rodrigues A. L. P. et al. In situ dry matter degradation of tropical forages harvested at different ages. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* 2004. Vol.56, № 5. P. 658-664.
15. Yitbarek M. B., Tamir B. Silage additives. *Open Journal of Applied Sciences.* 2014. Vol.4, № 5. P. 258-274. <https://doi.org/10.4236/ojapps.2014.45026>.
16. Driehuis F., Oude Elferink S. J. W. H., Van Wikselaar P. G. Fermentation characteristics and aerobic stability of grass silage inoculated with *Lactobacillus buchneri*, with or without homofermentative lactic acid bacteria. *Grass and Forage Science.* 2001. Vol. 56, № 4. P. 330-343.
17. Seppälä A., Heikkilä T., Mäki M., Rinne M. Effects of additives on the fermentation and aerobic stability of grass silages and total mixed rations. *Grass and forage Science.* 2016. Vol. 71, № 3. P. 458-471.

18. Wrobel B., Zielinska K. J., Fabiszewska A. U. The effect of biological additives on aerobic stability of silages from meadow sward intended for feeding and energy production. *Journal of Research and Applications in Agricultural Engineering*. 2017. Vol. 62, № 4. P. 205-210.
19. Herrmann C., Idler C., Heiermann M. Improving aerobic stability and biogas production of maize silage using silage additives. *Bioresource Technology*. 2015. Vol. 197. P. 393-403.
20. Markovic J., Blagojevic M., Kostic I., et.al. Effect of bacterial inoculants application and seeding rate on common vetch-oat silage quality. *Biotechnology in Animal Husbandry*. 2019. Vol. 34, № 2. P. 251-257.
21. Danylenko. S. G., Khonkiv M. O., Iskra K. O. Laktobakterii dlia sylosuvannia roslynnoi syrovyny. *Ahrarna nauka ta kharchovi tekhnolohii*. [Lactobacilli for ensilage vegetable raw materials. *Agricultural science and food technology*] 2019. Vol. 108, №5. P. 3-12.
22. Sychevskij N. P., Kopylova K. V., Danylenko S. G. Effektivnost' preparata «Senosil» dlia konservovaniya silosa. *Zernovi produkty i kombikormy*. [The effectiveness of the drug "Senosil" to preserve the silage. *Cereal products and compound feeds*] 2016. Vol. 63, № 3. P.16-21.
23. Syrovatko K. M. Vplyv biolohichnoho konservantu na yakist ta produktyvnu diiu sinazhu. *Ahrarna nauka ta kharchovi tekhnolohii*. [Biological effect of preservative on the quality and productive action of silage. *Agricultural science and food technology*] 2017. Vol. 1, № 95. P. 90-96.
24. Kurnaiev O. Yakist ta enerhetychna pozhyvnist liutsemovoho sylosu pry zastosuvanni bakterialno-fermentnoho preparatu. *Tvarynnytstvo Ukrainy*. [Quality and nutritional value of alfalfa silage energy when applying bacterial-enzyme preparation. *Ukraine Livestock*] 2015. № 4. P. 40-42.
25. Pahlow G., Muck R. E., Driehuis F., et.al. Microbiology of ensiling. *Silage science and technology*. 2003. Vol. 42. P. 31-93.
26. Kung Jr. A Review on Silage Additives and Enzymes. Department of Animal and Food Sciences University of Delaware. Newark. 2003.
27. Lavermicocca P., Valerio F., Evidente A., et.al. Purification and Characterization of Novel Antifungal Compounds from the Sourdough *Lactobacillus plantarum* Strain 21B. *Applied and Environmental Microbiology*. 2000. Vol. 66, № 9. P. 4084-4090.
28. Ström K., Sjögren J., Broberg A., Schnürer J. *Lactobacillus plantarum* MiLAB 393 produces the antifungal cyclic dipeptides cyclo (L-Phe-L-Pro) and cyclo (L-Phe-trans-4-OH-L-Pro) and 3-phenyllactic acid. *Appl. Environ. Microbiol.* 2002. Vol. 68, № 9. P. 4322-4327.
29. Dieuleveux V., Gueguen M. Antimicrobial effects of D-3- phenyllactic acid on *Listeria monocytogenes* in TSB-YE medium, milk, and cheese. *J. Food Prot.* 1998. Vol. 61. P. 1281-1285.
30. Dieuleveux V., Lemarinier S., Gueguen M. Antimicrobial spectrum and target site of D-3-phenyllactic acid. *Int. J. Food Microbiol.* 1998. Vol. 40. P. 177-183.
31. Dieuleveux V., Van Der Pyl D., Chataud J., Gueguen M. Purification and characterization of anti-*Listeria* compounds produced by *Geotrichum candidum*. *Appl. Environ. Microbiol.* 1998. Vol. 64. P. 800-803.
32. Weinberg Z. G., Ashbell G., Hen Y., Azrieli A. The effect of applying lactic acid bacteria at ensiling on the aerobic stability of silages. *J. Appl. Bacteriol.* 1993. Vol. 75. P. 512-518.
33. Danner H., Holzer M., Mayrhuber E., Braun R. Acetic acid increases stability of silage under aerobic conditions. *Appl. Environ. Microbiol.* 2003. Vol. 69. P. 562-567.
34. Zielinska K., Fabiszewska A., Swiątek M., Szymanowska-Powałowska D. Evaluation of the ability to metabolize 1,2-propanediol by heterofermentative bacteria of the genus *Lactobacillus*. *Electron. J. Biotechnol.* 2017. Vol. 26. P. 60-63.
35. Kleinschmit D. H., Kung Jr. L. A meta-analysis of the effects of *Lactobacillus buchneri* on the fermentation and aerobic stability of corn and grass and small-grain silages. *Journal of dairy Science*. 2006. Vol. 89, № 10. P. 4005-4013.

36. Valerio F., Lavermicocca P., Pascale M., Visconti A. Production of phenyllactic acid by lactic acid bacteria: an approach to the selection of strains contributing to food quality and preservation. *FEMS microbiology letters*. 2004. Vol. 233, № 2. P. 289-295.

37. Moon N.J. Inhibition of the growth of acid tolerant yeasts by acetate, lactate and propionate and their synergistic mixtures. *J. Appl. Bacteriol.* 1983. Vol. 55. P. 454-460.

38. Arriola K. G., Kim S. C., Adesogan A. T. Effect of applying inoculants with heterolactic or homolactic and heterolactic bacteria on the fermentation and quality of corn silage. *Journal of dairy science*. 2011. Vol. 94, № 3. P. 1511-1516.

Міністерство освіти і науки України
24-та секція за фаховим напрямом
«Наукові проблеми харчових технологій та промислової біотехнології»
Наукової ради Міністерства освіти і науки України
НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ХАРЧОВИХ ТЕХНОЛОГІЙ



ІХ МІЖНАРОДНА
НАУКОВО-ТЕХНІЧНА КОНФЕРЕНЦІЯ

**"Наукові проблеми харчових технологій та промислової біотехнології в
контексті Євроінтеграції"**

ПРОГРАМА ТА ТЕЗИ МАТЕРІАЛІВ

10-11 листопада 2020 р.

КИЇВ НУХТ 2020

ЗМІСТ

Секція 1.

Промислова біотехнологія, процеси та апарати харчової, мікробіологічної та фармацевтичної промисловості

1	Н. В. Видасов, О. О. Лихова, С. М. Тетеріна, Т. П. Козак, Н. М. Безденсжих	17
	Вплив гіперінсулінемії на біологічні властивості клітин раку молочної залози людини нової клітинної лінії vsc/p	
2	Т. Р. Pirog, N.O. Leonova, N.O. Klymenko, V.I. Zhdanyuk, D.V. Piatetska, T.A. Shevchuk	19
	Influence of tryptophan on auxin-synthesizing ability of surfactant producer <i>ACINETOBACTER CALCOACETICUS</i> IMV B-7241	
3	М.М. Бовт, О.О. Чепелюк, О.М. Чепелюк	21
	Визначення раціональних параметрів змішування і зволоження компонентів таблетувальних сумішей	
4	Т.П. Пирог, Н.О. Леонова, Н.О. Клименко, В.І. Жданюк, Т.А. Шевчук, Д.В. П'ятецька	23
	Індукція синтезу ауксинів <i>RHODOCOCCUS ERYTHROPOLIS</i> IMB Ac- 5017 за наявності триптофану	
5	О.М. Недбайло, Д.М. Чаласв, Н.Б.Сильнягіна	25
	Розробка та дослідження енергоефективних кожухотрубних теплообмінників для високомінералізованих середовищ	
6	М. Б. Ярош, А. А. Вороненко, Т. П. Пирог	27
	Визначення оптимального молярного співвідношення концентрацій ацетату та соняшникової олії у суміші для синтезу етаполану	
7	Н.О. Бублієнко	29
	Утилізація бурякового жому з отриманням біогазу	
8	Т.П. Пирог, Д.В. Жалюк	31
	Синергічна дія суміші поверхнево-активних речовин <i>RHODOCOCCUS ERYTHROPOLIS</i> IMB Ac-5017 та антибіотиків	
9	М. О. Хоньків, С. Г. Даниленко, С. М. Тетеріна, О. І. Потемська	33
	Використання багатокритеріальної оптимізації поживного середовища для накопичення біомаси молочнокислих бактерій	
10	Т.П. Пирог, О.Л. Бахтій	35
	Синергізм антимікробної дії комплексу мікробних поверхнево- активних речовин та антифунгальних засобів	
11	В.М. Удимович, В.П. Стабніков	37
	Молочнокислі бактерії як продуценти кислоти уреаз	
12	О.М. Недбайло, О.Є. Степанова	39
	Енергоефективний спосіб та установка для підготовки основи при одержанні супозиторіїв	

9. ВИКОРИСТАННЯ БАГАТОКРИТЕРІАЛЬНОЇ ОПТИМІЗАЦІЇ ПОЖИВНОГО СЕРЕДОВИЩА ДЛЯ НАКОПИЧЕННЯ БІОМАСИ МОЛОЧНОКИСЛИХ БАКТЕРІЙ

М. О. Хоньків^{1,2}, С. Г. Даниленко², С. М. Тетеріна¹, О. І. Потемська¹

¹Національний університет харчових технологій

²Інститут продовольчих ресурсів НААН України

Постановка проблеми. Найважливішою стадією у виробництві бактеріальних препаратів на основі молочнокислих бактерій є отримання максимального виходу біомаси за мінімальний термін культивування. Культивування молочнокислих бактерій ускладнено особливостями поживних потреб цих мікроорганізмів. Для цих бактерій необхідна наявність в поживному середовищі факторів росту – амінокислот, вітамінів, мікроелементів тощо. Тому, питання оптимізації умов культивування бактерій є актуальним.

Метою даного дослідження було оптимізувати склад поживного середовища, для вирощування бактеріальної композиції *Lactobacillus. buchneri* 3806, *L. plantarum* 3796, *Enterococcus faecium* C-8-12. Загальноживаним середовищем для вирощування бактеріальних композицій на основі молочнокислих бактерій є середовище МРС (Ман, Рогоза, Шарп), яке містить всі необхідні для їх розвитку поживні речовини і фактори росту.

В промислових умовах застосування такого середовища є недоцільним через його високу вартість.

Методологія дослідження. Для оптимізації складу поживного середовища використовували метод ротатабельного центрально-композиційного планування, який дозволив проаналізувати відгук росту молочнокислих бактерій в залежності від 6 обраних факторів, а саме концентрація: глюкози, кукурудзяного і дріжджового екстрактів, пептону, ацетату та цитрату натрію.

Критерієм оптимальності було обрано оптичну густину культуральної рідини.

Приклад однієї з 15 одержаних поверхонь відгуку, за якими встановлювали оптимальні концентрації компонентів наведено на рис. 1.

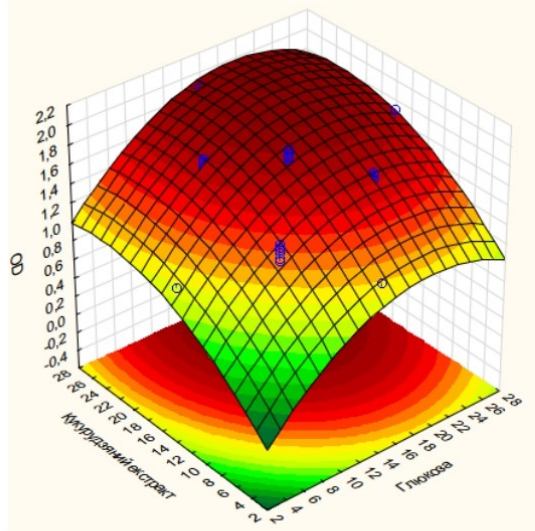


Рис. 1. Поверхня відгуку оптичної густини (D) від концентрації кукурудзяного екстракту та глюкози в поживному середовищі.

Результати. Було оптимізовано поживне середовище наступного складу, г/л: основа (гідролізоване протосубтиліном молоко з додаванням наступних солей: калій фосфорнокислий однозаміщений – 2 г/л; марганець сірчаноокислий 5-водний – 0,05 г/л; магній сірчаноокислий 7-водний – 0,2 г/л, твін-80 – 1,0); глюкоза – 19,7; дріжджовий екстракт – 7,8; кукурудзяний екстракт – 23,6; пептон – 9,1; цитрат натрію – 6,6; ацетат натрію – 3,4.

Нарощування бактеріальної композиції дозволило отримати максимальний вихід біомаси за якого показник оптичної густини становив 2,01 од., що практично в два рази більше ніж значення, яке було одержано при культивуванні тієї ж композиції в середовищі МРС.

Висновок. Оптимізоване середовище рекомендовано для культивування бактеріальної композиції в промислових умовах.

УДК 579.663

Ministry of Education and Science of Ukraine

National University of Food Technologies

86

**International scientific conference
of young scientist and students**

**"Youth scientific achievements
to the 21st century nutrition
problem solution"**

April 2–3, 2020

Part 1

Kyiv, NUFT, 2020

41. Антагоністична активність штамів *Lactobacillus*, перспективних для силосування рослинної сировини

Мирослав Хоньків¹, Світлана Тетеріна¹, Світлана Даниленко²

¹ – Національний університет харчових технологій, Київ, Україна

² – Інститут продовольчих ресурсів НААН, Київ, Україна

Вступ. Використання гетероферментативних лактобацил в силосуванні рослинної сировини зумовлено їх широкою бактерицидною активністю, що, в свою чергу, дозволяє отримувати силос з підвищеною стійкістю до псування.

Метою наших досліджень було порівняння штамів гетероферментативних бактерій, виділених з силосу природнього бродіння, з музейними гомоферментативними культурами щодо антагоністичної активності відносно гнильної мікробіоти.

Матеріали та методи. Досліджувані штами: *Lactobacillus buchneri* 3800 і 3806. Референтні штами: *L. rhammosus* 3303 і 3333 та *L. acidophilus* 7074. Тест-культурами слугували штами умовно-патогенних мікроорганізмів, *Proteus vulgaris* ПСК 160209, *Escherichia coli* 055, *E. coli* 0111, *Pseudomonas aeruginosa* 9027. *Enterococcus faecalis*, *Clostridium perfringens*.

Антагоністичну активність досліджували за методом лунок на твердому поживному середовищі. В товщі МПА, засіяного тест-культурами, трубкою вирізали лунки діаметром 6 мм, в які засівали суспензію культур *Lactobacillus* з концентрацією 10⁹ мікробних клітин у 1 см³. Засіяні чашки Петрі витримували за температури 4° С протягом 30 хв, потім в термостаті за температури 38 °С протягом 18-24 год, дали вимірювати зону пригнічення росту тест-культури навколо лунки.

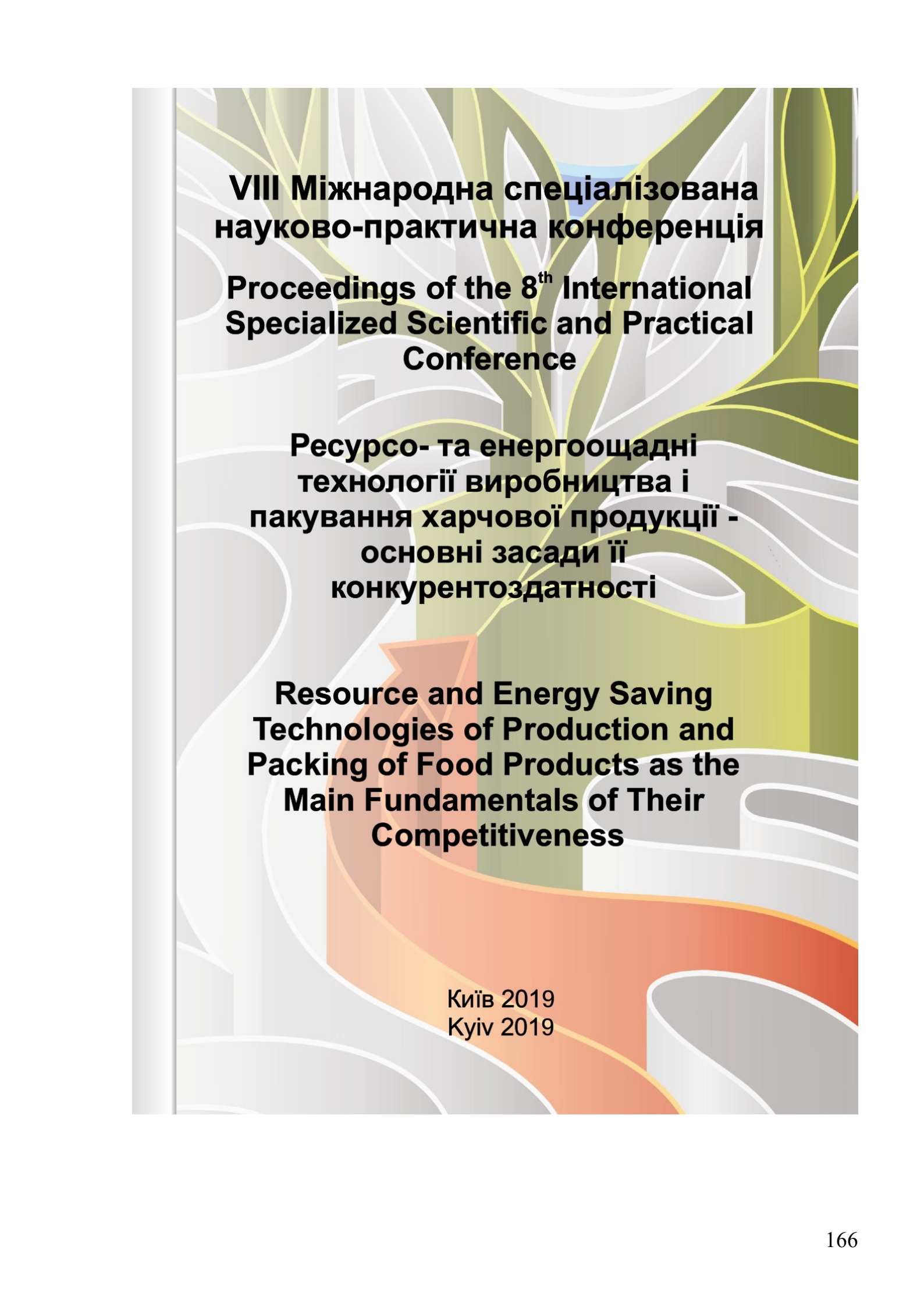
Результати та обговорення. Результати антагоністичної активності наведено в таблиці.

Таблиця. Антагоністична активність

Назва тест культури	Зони пригнічення росту навколо лунок з дослідними культурами, мм				
	<i>L. rhammosus</i> 3303	<i>L. rhammosus</i> 3333	<i>L. acidophilus</i> 7074	<i>L. buchneri</i> 3800	<i>L. buchneri</i> 3806
<i>P. vulgaris</i>	0	0	8	0	10
<i>E. coli</i> 055	12	10	21	12	15
<i>E. coli</i> 0111	10	14	8	10	11
<i>P. aeruginosa</i>	10	15	14	11	16
<i>E. faecalis</i>	0	6	18	12	22
<i>Cl. perfringens</i>	0	0	8	0	8

З 5 дослідних штамів, високу антагоністичну активність до використаних тест-культур має лише *L. acidophilus* 7074 по відношенню до *E. coli* 055 та культура *L. buchneri* 3806 до *E. faecalis*. Найбільш виражену антагоністичну активність лактобактерії проявляють до та *P. aeruginosa* 9027 та *E. coli* 055. Зокрема окрім *L. acidophilus* 7074, *L. buchneri* 3806, як і очікувалося має середню силу інгібування, затримавши ріст *P. aeruginosa* 9027 та *E. coli* 055. Лише два штами пригнічували ріст *Cl. perfringens*. Штами *L. buchneri* 3800, *L. rhammosus* 3303 проявили найнижчу антагоністичну активність.

Висновки. Культура *L. buchneri* 3806 володіє достатньою антагоністичною активністю щодо інгібування гнильної мікробіоти, що дозволяє рекомендувати даний штам для використання в складі нових препаратів для силосування.



**VIII Міжнародна спеціалізована
науково-практична конференція**

**Proceedings of the 8th International
Specialized Scientific and Practical
Conference**

**Ресурсо- та енергоощадні
технології виробництва і
пакування харчової продукції -
основні засади її
конкурентоздатності**

**Resource and Energy Saving
Technologies of Production and
Packing of Food Products as the
Main Fundamentals of Their
Competitiveness**

Київ 2019
Kyiv 2019

14.	Goranova¹, Zh.T., Petrova¹, T.V., Bakalov¹, I. Sabeva¹, P., Baeva², M.R., IFPO, Plovdiv, Bulgaria, ² University of Food Technologies (UFT), Plovdiv, Bulgaria	
	Application of pumpkin seeds powder using in sponge cake.....	41
15.	Даниленко С.Г., Грушківська А.О., Хоньків М.О., ПП НААН, м. Київ, Україна	
	Відбір лактобактерій для закваски з житнього та пшеничного борошна.....	43
16.	Васильєва О.О., КНТЕУ, м. Київ, Україна	
	Інноваційна технологія топінгів підвищеної біологічної цінністю	45
17.	Dubovkina Iryna, IET NASU, Kyiv, Ukraine	
	Modelling of the hydrodynamic conditions during liquid system processing by alternating impulses of pressure.....	46
18.	Мирончук В.Г., Ободович О.М., Сидоренко В.В., 1 - Інститут технічної теплофізики НАН України, м. Київ, Україна, 2 - НУХТ, м. Київ, Україна	
	Вплив кількості циклів обробки в роторно-пульсаційному апараті на дисперсність часток рослинної сировини.....	47
19.	Ободович О.М.¹, Булій Ю.В.², Сидоренко В.В.¹, 1 - Інститут технічної теплофізики НАН України, м. Київ, Україна, 2 - НУХТ, м. Київ, Україна	
	Дискретно-імпульсне введення енергії (ДІВЕ) – інноваційний шлях розвитку ресурсо- та енергозберігаючих технологій в харчовій промисловості.....	48
20.	Олійник С.І, Острик О.М, Петросян С.А., НУХТ, м. Київ, Україна	
	Цукор та стійкість лікєро-горілчаної продукції.....	50
21.	Олійник С.І, Самченко І.О., НУХТ, м. Київ, Україна	
	Оброблення сортівки у виробництві горілок.....	51
22.	Кузьмін О.В., НУХТ, м. Київ, Україна	
	Ресурсоощадні технології віскі.....	52
23.	Кириленко Р.Г., Булій Ю.В., Марущак Г.Р., Мартинов В.О., НУХТ, м. Київ, Україна	
	Обґрунтування раціональних параметрів роботи розгінної колони.....	53
24.	Нескуба О.О., Чепелюк О.О., НУХТ, м. Київ, Україна	
	Інтенсифікація процесу сатуравання напоїв з використанням електрохімічної активації води.....	56
25.	Рачок В.В., Теличкун Ю.С., Теличкун В.І., НУХТ, м. Київ, Україна	
	Дослідження процесу замішування дріжджового тіста з використанням кулачкових робочих органів.....	58
26.	Ковалев А. В., НУИТ, г. Киев, Украина	
	Влияние интенсивности теплоподвода на теплофизические характеристики теста и мякиша хлеба.....	61
27.	Стеценко Н.О., Медведюк Д.О., НУХТ, м. Київ, Україна	
	Використання фософоліпідів насіння соняшника при виробництві ковбас оздоровчого призначення.....	64
28.	Позднякова А.О., Миколенко С.Ю., Гезь Я.В., ДДАЕУ, м. Дніпро, Україна	
	Використання побічних продуктів переробки гарбузда для виробництва печива.....	66
29.	Боиштян А. Кирсанова А., ТУМ, Кишинев, Молдова	
	Влияние озонирования и технологических обработок на количество остаточных пестицидов в овощах.....	68

УДК 664.6: 579.674

Даниленко С.Г., д.т.н., Грушковська А.О., Хоньків М.О.

Інститут продовольчих ресурсів Національної академії аграрних наук (ІПР НААН),
м. Київ, Україна

ВІДБІР ЛАКТОБАКТЕРІЙ ДЛЯ ЗАКВАСКИ З ЖИТНЬОГО ТА ПШЕНИЧНОГО БОРОШНА

Вступ. Хліб – один із найважливіших продуктів харчування всіх жителів Землі упродовж багатьох тисячоліть. Виробники пропонують великий асортимент різновидів хліба, багато які з них мають унікальні властивості. Декілька століть тому в Україні хлібобулочні вироби з житнього борошна були досить поширеними, на відміну від пшеничних, які вважались делікатесом і випікались лише до великих свят. Традиційно, житні та житньо-пшеничні види хлібобулочних виробів виготовляють із використанням заквасок. Це пов'язано з особливостями вуглеводно-амілазного та білково-протеїнажного комплексів житнього борошна [1].

Закваска – це густий чи рідкий напівфабрикат хлібної промисловості, дія якої базується на комбінації спиртового і молочнокислого бродіння поживної суміші житнього, житньо-пшеничного або пшеничного борошна [2]. Для виробництва хліба з високими якісними характеристиками застосовують закваски на основі чистих молочнокислих культур, дія яких забезпечує високі якісні характеристики у готовому продукті [3].

Досліджено склад мікробіоти хлібопекарських заквасок і пшеничного борошна. Встановлено, що вона є різноманітною і представлена широким спектром мікроорганізмів різних таксономічних груп, серед яких домінують молочнокислі бактерії родів *Lactobacillus*, *Lactococcus*, та *Enterococcus*. Отже, пошук перспективних до промислового застосування штамів слід вести серед цих груп лактобактерій. Традиційно вилучення націлений пошук ведеться за наступною схемою:

Етап 1. Культивування дослідного матеріалу у елективних середовищах збагачення.

Посів зразку у елективне поживне середовище, для вилучення молочнокислих бактерій, зазвичай, застосовують середовище М17, МРС або молоко, культивують упродовж 2-3 діб.

Етап 2. Отримання окремих колоній а їх аналізування.

Культуральну рідину спеціальним способом висівають на тверде селективне середовище, для отримання окремих колоній і культивують з урахуванням відмітних властивостей цільового мікроорганізму, наприклад температури – для розмежування мезофільних і термофільних лактобактерій, рН – для розмежування лактобацил і лактококів і т.д.

Етап 3. Отримання чистих культур.

Аналізують тип і форму утворених колоній, готують із кожної мікроскопічний препарат та проглядають його у мікроскопі. Таку процедуру повторюють до тих пір, доки не отримують однорідну за морфологією культуру.

Етап 4. Ідентифікація штамів. Таксономічну приналежність отриманих штамів встановлюють після впевненості у чистоті отриманої культури. Ідентифікують штам за особливостями морфології колоній і клітин лактобактерій, тінкторіальних, культуральних і біохімічних властивостей.

Загалом із збагачувальних культур після серії пересівів на відповідні селективні середовища було отримано у чисту культуру 98 штамів лактококів та лактобацил. Скринінг отриманих штамів за біологічними та технологічними властивостями, що є необхідними у виробництві хліба (здатність до гідролізу пшеничного і картопляного крохмалю, рівень газоутворення, енергія кислотоутворення, гранична кислотність), а також антагоністична активність до основних контамінантів борошна дозволив відібрати з них 6 найактивніших штамів.

Штами № 1-10-1 і Х6-011 характеризувалися найвищою молокозсідальною активністю, тоді як для штамів Х2-006, Х4-015 і № 2-06 вона була нижчою. Штам №04-2 взагалі не сквашував молоко. Досліджені штами розрізнялись за рівнем граничної кислотності, яка коливалась у широких межах від 52 до 196 °Т. Найвищу межу граничної кислотності спостерігали для №1-10-1 та несподівано у штаму з низькою молокозсідальною активністю №2-9. Лише 2 штами Х6-11і №4-2 утворювали газ при ферментації глюкози, що свідчить про гетероферментативний тип молочнокислого бродіння. Пшеничний крохмаль активно гідролізував лише 1 штам, тоді як картопляний – 4, а штам №1-10-1 взагалі не проявив амілолітичної активності.

На основі найактивніших штамів було скомпоновано 6 композицій.

Проведено дослідження їх розвитку у житньому і пшеничному борошні (рис. 1) Як видно із даних рисунку композиції Д 1 і Д 3 показали хороший ріст під час визрівання тіста з пшеничного борошна. Зокрема, вони значно швидше адаптувались до борошна, про що свідчить коротка лаг-фаза, і досягали максимальної кількості клітин на 24 год швидше ніж з контролю.

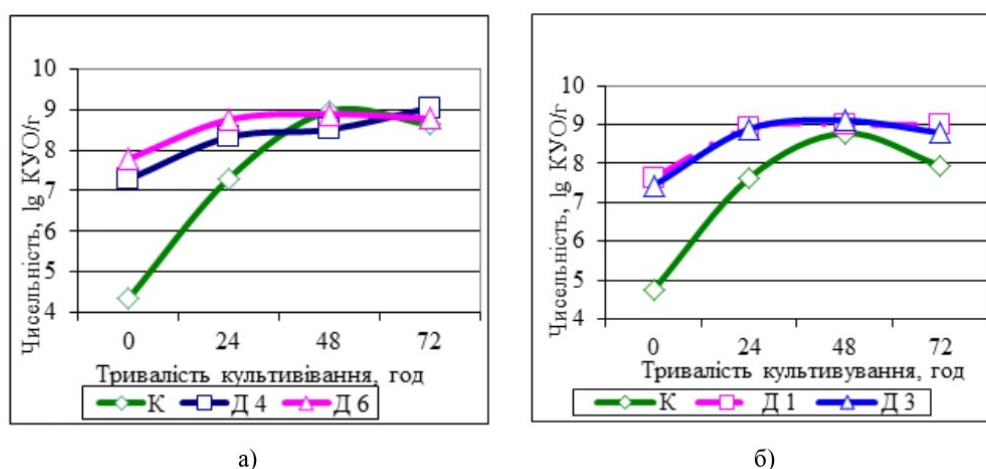


Рисунок 1 - Динаміка розвитку композицій на основі лактобацил у житньому (а) і пшеничному борошні (б).

Що стосується житнього борошна, то динаміка нагромадження клітин бактерій із композиції Д 6 та композиції Д 4 практично не розрізнялась. Розбіжність у кількості клітин, які спостерігали упродовж дослідження, ймовірно, є наслідком меншої кількості клітин у інокуляті останньої композиції.

Відібрані композиції також показали високу антагоністичну активність до технічно шкідливої мікробіоти: золотистого стафілококу, кишкової палички, спороутворювальних бацил, протею, псевдомонасів і ерсиній. При цьому композиції Д 3 і Д 6 були більш активними порівняно з композиціями Д 1 і Д 4.

Висновок. Запропоновані композиції забезпечують необхідний перебіг ферментації житнього і пшеничного борошна, а також забезпечують належний рівень безпеки і таким чином є перспективними для промислового застосування.

Література.

1. Кусова І.У. Закваски при производства ржаного хлеба. *Кондитерское хлебопекарское производство*. 2009. № 9. С. 24-26
2. Дробот В.І. Довідник з технології хлібопекарського виробництва: навч.посіб. для студ. вищ. навч. закл. К.:Руслана. 1998. 416 с.
3. Rollan G., Geres C., Dallagnol A., Torino M., Font G. Uplate in bread fermentation by lactic acid bacteria. *Current research, technology and education, topics in applied microbiology and microbial biotechnology*. 2010. 8. P.1168- 1174.



**НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ АГРАРНИХ НАУК УКРАЇНИ
ІНСТИТУТ ПРОДОВОЛЬЧИХ РЕСУРСІВ**

ІННОВАЦІЙНИЙ РОЗВИТОК ХАРЧОВОЇ ІНДУСТРІЇ

**Збірник наукових праць за матеріалами
VII Міжнародної науково-практичної конференції**

Секція 1. «Інноваційні технології в харчовій індустрії»

Секція 2. «Розвиток конкурентоспроможної харчової
промисловості та механізми організації
ефективних продовольчих ринків»

**21 листопада 2019 року
Інститут продовольчих ресурсів НААН
м. Київ**

**Під загальною редакцією М.П. Сичевського,
д.е.н., професора, академіка НААН**

Київ – 2019

Данилова Е. О., Сенченко М. А., Корчагина А. В.	Микробиологические и химико-токсикологические испытания безалкогольных напитков с растительным заменителем сахара	32
Дідух І. М., Славов В. П., Трохименко В. З.	Моніторинг радіонуклідного забруднення харчових продуктів власного виробництва на прикладі Овруцького району Житомирської області	35
Дорохович В. В., Грищевіч М. Ю., Богатирьова Є. В.	Розроблення низькобілкових «борошняних» кондитерських виробів – актуальне завдання	37
Каташов С. О., Хоньків М. О., Даниленко С. Г., Ніжельська О. І., Маринченко Л. В.	Сорбція пробіотичних культур ентеросорбентами на основі високодисперсного кремнезему	39
Копилова К. В., Врбицький С. Б., Вербова О. В., Козаченко О. Б.	Основні засади виявлення сторонніх включень у кондитерських і хлібобулочних виробках	41
Корженівська А. О., Даниленко С. Г.	Відбір молочнокислих бактерій до складу закваски для хліба з житнього борошна	44
Кузнєцова І. В., Ярмолюк М. А.	Гарбуз сушений: отримання і використання	45
Літвинчук С. І., Гуцало І. В.	Порівняльна характеристика способів визначення масової частки олеїнової кислоти в олії соняшникового насіння	48
Літвинчук С. І., Дорохович В. В., Носенко В. Є.	Порівняльний аналіз спектрів відбивання пряників з додаванням цукру та ізомальтитулу	51
Матвєєва Т. В., Федякіна З. П., Філенко Л. М.	Дослідження нових сорбентів процесу адсорбційної рафінації	53
Миколенко С. Ю., Омельченко М. Ю.	Виробництво органічного хліба із диспергованої спельти	55

СОРБЦІЯ ПРОБІОТИЧНИХ КУЛЬТУР ЕНТЕРОСОРБЕНТАМИ НА ОСНОВІ ВИСОКОДИСПЕРСНОГО КРЕМНЕЗЕМУ

*Каташов С. О., Київський політехнічний інститут
ім. Ігоря Сікорського, Київ, Україна,*

*Хоньків М. О., Національний університет харчових технологій,
Київ, Україна,*

*Даниленко С. Г., Інститут продовольчих ресурсів НААН, Київ, Україна,
Ніжельська О. І., Навчально-науковий центр*

«Фізико-хімічне матеріалознавство» НАН України, Київ, Україна,

*Маринченко Л. В., Київський політехнічний інститут
ім. Ігоря Сікорського, Київ, Україна*

В Україні близько 18 % осіб мають певну гастроентерологічну патологію, що супроводжується дисбіозом [1]. Крім того, якісний стан мікробіоти кишківника є важливим фактором здоров'я людини, зокрема її імунного статусу. Тому для корекції мікробіоценозу кишечника використовують, зокрема пробіотики, пребіотики та синбіотики. Важливим фактором ефективності пробіотикотерапії є виживаність клітин у шлунково-кишковому тракті та їх інтеграція в біоплівку кишечника. Отже, набуло актуальності створення комбінованих препаратів з іммобілізованими культурами.

Зокрема, досліджено умови іммобілізації пробіотиків *S. boulardii*, *B. bifidum*, *L. bulgaricus* на ентеросорбентах на основі активного вугілля («Сорбекс», «СУМС-1») та показано, що відновлення пристінкової мікрофлори товстої кишки та ерадикація транслокованої кишкової мікробіоти після введення іммобілізованих пробіотиків відбуваються значно раніше, ніж у разі терапії вільними клітинами пробіотиків та препаратами ентеросорбентів [1].

Також встановлено високу сорбційну здатність нанопорошку оксиду кремнію: в концентрації від 0,33 до 1,33% він зв'язує 99-100 % мікроорганізмів (до $3 \cdot 10^9$ мікробних тіл на 1 г сорбенту), незалежно від виду, що є підставою для його застосування як антидіарейного препарату [2]. Тому метою нашої роботи було дослідити можливість сорбції пробіотичних культур на високодисперсні кремнеземи, які використовують у лікуванні дисбіозів як самостійні лікарські засоби для детоксикації.

Як сорбенти для іммобілізації пробіотиків було обрано сорбенти «Ентеросгель» та «Силард П». «Ентеросгель» – нерозчинний високодисперсний порошок метилкремніевої кислоти білого кольору, без

запаху і смаку, зневоднений за температури 120°C. Сорбент характеризується високою питомою поверхнею – від 120 до 300 м²/г, ефективний радіус пор більше 100 нм. «Силард П» – аморфний нанорозмірний кремнезем з розміром первинних частинок близько 10 нм, вторинних – до 500 нм. Головними сорбційними центрами порошку є силанольні групи [3].

В експерименті використовували пробіотичні культури виробництва Іпровіт: монокультуру *Streptococcus thermophilus* та асоціацію культур *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus bulgaricus*, *Lactobacillus plantarum*.

Культури в концентрації 10⁸ КУО/см³ змішували із сорбентами у співвідношенні 1 см³ культуральної рідини: 0,05 г препарату «Силард П» та 3,0 см³ культуральної рідини : 0,3 г препарату «Ентеросгель», перемішували на шейкері за 75 хв⁻¹ протягом 30 хв за кімнатної температури. Досліджували виживаність культур після ліофільного сушіння.

Як видно з цифрових мікрображень зразків (рис.1), клітини мікроорганізмів із сорбентами згруповано навколо частинок сорбенту, на відміну від зразку нативного препарату (контроль), що свідчить про сорбцію пробіотичних культур на високодисперсних кремнієвих препаратах.

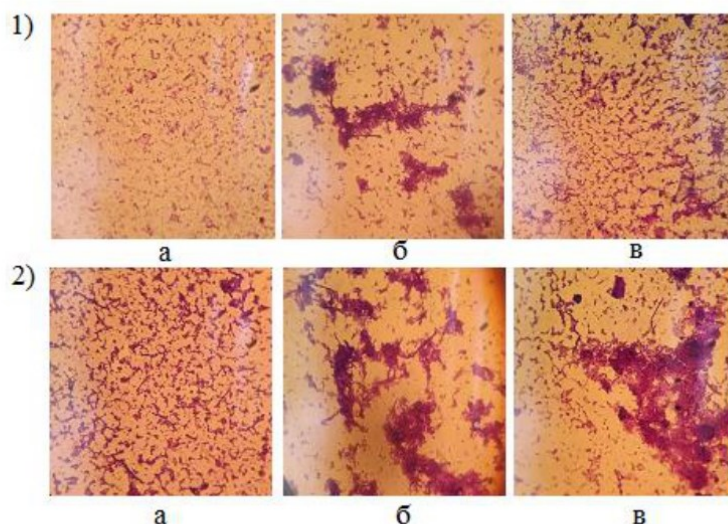


Рис.1. Сорбція пробіотичних культур на ентеросорбентах на основі високодисперсного кремнезему:

1) монокультура *Str. thermophilus*;

2) асоціація культур *Str. thermophilus*, *L. bulgaricus*, *L. plantarum*;

а – контроль, б – з «Ентеросгель», в – із «Силард П»

(світловий мікроскоп, збільшення 10x100)

Результати підрахунку життєздатних клітин показали гарну виживаність іммобілізованих клітин на високодисперсних кремнієвих препаратах як після

перемішування, так і після висушування, що дає підстави до подальшої оптимізації режимів сорбції та висушування отриманих зразків.

Бібліографія

1. Біологічні властивості іммобілізованих на ентеросорбентах пробіотиків після низькотемпературного зберігання : автореф. дис. ... канд. мед. наук : 14.01.35. О. М. Бабінець; НАН України, Ін-т пробл. кріобіології і кріомедицини. Харків, 2016. 23 с.

2. Чуйко А. А., Пентюк А. А. Научные принципы создания лекарственных препаратов на основе дисперсного кремнезема. Научные основы разработки лекарственных препаратов. Харьков: Основа. 1999. 35–51.

3. Геращенко І. І., Гунько В. М., Ніцак О. В. Порівняння мембранотропних властивостей силіксу й ентеросгелю. Мед. хімія. 2009. № 1(11). 25–29.

УДК 620.192.63:664

ОСНОВНІ ЗАСАДИ ВИЯВЛЕННЯ СТОРОННІХ ВКЛЮЧЕНЬ У КОНДИТЕРСЬКИХ І ХЛІББУЛОЧНИХ ВИРОБАХ

Копилова К. В., д.с.-г.н.,

заст. директора з наукової та інноваційної роботи,

Вербицький С. Б., к.т.н., заст. зав. відділом,

Вербова О. В., н.с.,

Козаченко О. Б., гол. фах.,

Відділ інформаційного забезпечення, стандартизації та метрології,

Інститут продовольчих ресурсів НААН, Київ, Україна

Наразі завершено впровадження систем управління безпечністю харчових продуктів НАССР в харчовій промисловості України – з вересня 2019 р зазначене впровадження стало обов'язковим для всіх харчових підприємств країни згідно з Законом України «Про основні принципи та вимоги до безпечності та якості харчових продуктів», запровадженого [1]. Системи НАССР охоплюють ідентифікацію, оцінювання, аналіз та контроль ризиків, важливих для безпеки харчових продуктів.

Впровадження систем НАССР на харчових підприємствах передбачає, насамперед, встановлення критичних контрольних точок (ККТ), які призначають, зокрема, на постах контролю і видалення сторонніх включень в готових продуктах, оскільки існує ймовірність потрапляння до них

ФІЗІОЛОГІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ ШТАМІВ *LACTOBACILLUS BUCHNERI* ВИДІЛЕНИХ З СПОНТАННОЇ МІКРОБІОТИ СИЛОСУ

*Хоньків М. О., студент 1 курсу магістратури,
Національний університет харчових технологій, Київ, Україна,
Даниленко С. Г., д.т.н., с.н.с, завідувач відділу біотехнології,
Інститут продовольчих ресурсів НААН, Київ, Україна,*

Гетероферментативні лактобацили все більше використовуються при створенні мікробіологічних інокулянтів. Такі мікроорганізми домінують у силосах природнього бродіння, що є підставою використовувати їх як біологічні агенти для підвищення контролю перебігання процесу силосування. Найбільш дослідженим представником, якого можна знайти серед мікробіоти силосу є *Lactobacillus buchneri*. Основною його перевагою, як і інших гетероферментативних лактобацил є підвищення аеробної стійкості за рахунок синтезу метаболітів з високою антагоністичною активністю проти дріжджів та пліснявих грибів. Для *L. buchneri* речовинами з такими властивостями виступають оцтова кислота та 1,2-пропандіол [1]. Здатність природних молочнокислих бактерій швидко утворювати молочну кислоту по-різному виражена і не залежить від видів або сортів, стадії стиглості, сівозміни. Доведено, що природне заселення зеленої маси молочнокислими бактеріями недостатньо для досягнення швидкого зниження рН (менше ніж протягом трьох днів). Додавання молочнокислих бактерій є суттєвою передумовою для виготовлення високоякісного силосу.

Метою досліджень було дати оцінку перспективності використання штамів *L. buchneri*, виділених з спонтанної мікрофлори силосу, для розробки інокулянту на їх основі.

Для досягнення поставленої мети було закладено дослідні зразки силосу з додаванням культур лактобацил: *L. buchneri* 3800, *L. buchneri* 3806.

В умовах лабораторії силос закладали в скляні банки, ретельно утрамбовували і герметично закривали. Доза внесення культури становила – 100 см³ на 1 т зеленої маси. Робочий розчин бактерій в однаковій концентрації вносили до рослинної сировини. Кінцева концентрація мікроорганізмів в рослинній сировині становила 5,2-6,3·10⁵ КУО/см³.

По готовності силосу (через 4 тижні після закладки) був проведений аналіз дослідних зразків за показником активної кислотності.

Штами *L. buchneri* показали активну швидкість накопичення органічних кислот. Значення активної кислотності для *L. buchneri* (4,5 - 4,6) знаходяться в діапазоні значень рН, характерних для якісного силосу.

Отже проведені дослідження показали, що штами *L. buchneri* 3800, *L. buchneri* 3806, які були виділені з рослинної сировини проявляють достатні кислотоутворювальні властивості, використання *L. buchneri* в якості закваски при закладці зеленої маси кукурудзи не погіршує якість силосу.

Бібліографія

1. Fabiszewska A., Zielinska K. J., Wrobel B. Trends in designing microbial silage quality by biotechnological methods using lactic acid bacteria inoculants: a minireview. World J. Microbiol. Biotechnol. 2019. № 5 (35). P.76

УДК 664.653.05:001.891.5

ВИЗНАЧЕННЯ ПАРАМЕТРІВ ШТИФТОВИХ РОБОЧИХ ОРГАНІВ МАШИНИ ДЛЯ ЗАМІШУВАННЯ ТІСТА

Шпак М. С., к.т.н., інженер-конструктор, ТОВ «ВГ "Техінсервіс"», Україна,

Гавва О. М., д.т.н., проф., зав. кафедрою,

Чепелюк О.О., к.т.н., доц., доц.

Чепелюк О.М., к.т.н., доц., доц.

*кафедра машин і апаратів харчових та фармацевтичних виробництв,
Національний університет харчових технологій, Київ, Україна*

Для замішування тістових напівфабрикатів із пшеничного борошна доцільно використовувати штифтові робочі органи, які на першій стадії замішування забезпечують необхідну рівномірність розподілу компонентів протягом науково обґрунтованого часу і створюють найбільш сприятливі умови для циркуляції продукту в місильній місткості на третій стадії – пластифікації [1]. Завдяки невеликому опору при обтіканні тістом робочих органів такої форми стає можливим інтенсифікувати оброблення шляхом збільшення частоти обертання. Це, в свою чергу, збільшує продуктивність тістомісильного обладнання. Однак конфігурація робочих органів і режими їх роботи потребують обґрунтування.

Після проведення попередніх досліджень із вивчення впливу геометричних параметрів робочих органів на реологічні та гідродинамічні параметри в процесі замішування хлібного тіста, запропонована нова конструкція штифтового (стержневого) місильного органа (рис. 1), що являє собою вал з привареними до нього трьома циліндричними стержнями,

**МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
ВІННИЦЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ АГРАРНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
АКАДЕМІЯ СІЛЬСЬКОГОСПОДАРСЬКИХ НАУК ГРУЗІЇ**

**უკრაინის განათლებისა და მეცნიერების სამინისტრო
ვინიციის ეროვნული აგრარული უნივერსიტეტი
საქართველოს სოფლის მეურნეობის მეცნიერებათა აკადემია**



ВІННИЦЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ АГРАРНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
VINNYTSA NATIONAL AGRARIAN UNIVERSITY



GEORGIAN ACADEMY OF AGRICULTURAL SCIENCES
საქართველოს სოფლის მეურნეობის მეცნიერებათა აკადემია

АГРАРНА НАУКА ТА ХАРЧОВІ ТЕХНОЛОГІЇ

ЗБІРНИК НАУКОВИХ ПРАЦЬ

აგრარული მეცნიერება და კვების ტექნოლოგიები

სამეცნიერო შრომათა კრებული

**Випуск 4(107), том 2
გამოშვება 4(107), ტომი 2**

**Вінниця – 2019
ვინიცი – 2019**

УДК 636.085.52: 631.563.6

Даниленко С.Г., доктор технічних наук
Хоньків М.О., фахівець відділу біотехнології
Іскра К.О., фахівець відділу біотехнології
Інститут продовольчих ресурсів НААН України

ЛАКТОБАКТЕРІЇ ДЛЯ СИЛОСУВАННЯ РОСЛИННОЇ СИРОВИНИ

Силосування ефективний спосіб консервування рослинної сировини. Зокрема, одним із способів одержання якісного силосу з високою поживною цінністю є використання біопрепаратів на основі лактобацил. Зокрема, широко використовуються комбіновані препарати, в яких поєднуються високоактивні штами, які зумовлюють швидке зниження рН до 4,0-4,2 та продукування широкого спектру антимікробних метаболітів, таких як молочна, оцтова, пропіонова кислоти та інші леткі жирні кислоти. В цьому дослідженні вивчався біопрепарат «Сінсил-ТІММ» для силосування кукурудзи.

Було встановлено, що препарат характеризується високою активністю по накопиченню молочної та оцтової кислоти, які забезпечують антагоністичну активність проти анаеробної та аеробної мікрофлори псування. Також було встановлено, що силос оброблений препаратом «Сінсил-ТІММ» характеризується зменшенням втрат сирого протеїну. Було виявлено зниження сухої речовини. Вміст клітковини збільшився, проте характерним є зменшення вмісту лігніну. За органолептичними показниками силос характеризується зеленим кольором, присмним фруктовим запахом, консистенція частинок силосу є щільною, їх можна легко відділити одна від одної, та відсутнє ослизнення. Відповідно до ДСТУ 4782:2007 силос було віднесено до першого класу.

Ключові слова: лактобацили, кукурудзяний силос, біопрепарат, силосування

Рис. 4. Табл. 1. Літ. 15.

Постановка проблеми. Процес силосування як метод збереження соковитого корму, широко застосовується в усьому світові, та біохімічні основи якого описані в ряді наукових робіт починаючи з 30-х років минулого сторіччя. Вже остаточно в 80-х роках було доведено, що процес заснований на пригніченні мікрофлори псування силосу продуктами природнього бродіння деяких представників епіфітної мікрофлори рослинної сировини, що зумовлюють різке зниження рН силосу. Такими представниками є лактобактерії. Їх ферментні системи здійснюють розкладання водорозчинних вуглеводів переважно до таких органічних кислот як молочна, оцтова, пропіонова, внаслідок чого, у масі, що силосується, утворюється середовище із рН 4,0-4,2, яке нижче за рівень виживання мікробіоти псування [1-3].

Процес прийнято розділяти на чотири фази, кожна з яких характеризується певними особливостями:

Перша фаза – аеробна. Кисень, все ще присутній між частинками рослини, а значення рН становить 6,0-6,5. Відповідно, за таких умов відбувається дихання рослин, що поєднується з високою активністю аеробних і факультативно-аеробних мікроорганізмів. Ця фаза характеризується змішаним

складом мікрофлори [4].

Друга фаза – ферментація. Триває від кількох днів до декількох тижнів після того, як силос стає анаеробним після його герметизації. Після споживання всього кисню в силосі, аеробні мікроорганізми перестають свій розвиток. До того ж під час цієї фази переважаюча мікрофлора представлена саме молочнокислих бактерій, які виробляючи молочну та інші кислоти, знижують рівень рН до 3,8-5,0 [4].

Третя фаза – стабільна. Без надходження повітря всі параметри мало змінюються. За низького значення рН активність молочнокислих бактерій теж падає [4].

Четверта фаза – відкривання силосу. Під час цієї фази під впливом повітря повторно активуються аеробні мікроорганізми. Тому ряд досліджень присвячені методам забезпечення аеробної стабільності силосу [4].

Встановлено, що псування силосу спричинене епіфітними мікроорганізмами, що конкурують з молочнокислими бактеріями за вуглеводи. Найбільший вплив на зменшення харчової цінності силосу мають гнильні та термофільні бактерії (*Erwinia herbicola*, *Escherichia coli*, *Hafnia alvei* і *Serratia fonticola*). Вони здійснюють декарбоксілювання та дезамінування амінокислот в силосі, відновлення NO_3 , з накопиченням аміаку та біогенних амінів.

Аналіз останніх досліджень і публікацій. Переважна кількість клостридій (наприклад, *C. butyricum*, *C. tyrobutyricum*), розкладають вуглеводи і молочну кислоту до масляної кислоти. І хоча протигрибкові властивості масляної кислоти може підвищити аеробну стабільність, її присутність в силосі знижує їх харчову цінність [5].

Пліснява в силосі представлена деякими видами родів *Fusarium* і *Alternaria*; *Aspergillus flavus* і *Aspergillus parasiticus*; формами, які є ендоепіфітними симбіонтами в травах або злаках, такі як *Claviceps* і *Neotyphodium species*; і формами, які розвиваються в силосі без контролювання його біохімічних показників, наприклад *Penicillium roqueforti* та *Penicillium paneum*, *Aspergillus fumigatus*, *Monascus ruber*, *Byssochlamys nivea*, *Rhizopus nigricans* і *Chrysonilia sitophila* [6, 7]. Остання група найчастіше зустрічається під час зберігання силосу, або зазвичай виникає внаслідок його аеробного псування [7].

Широкою проблемою в силосах на багатьох молочних фермах є їх низька аеробна стабільність, що є результатом низької швидкості наповнення або недостатнього ущільнення упаковки під час силосування. Крім того, будь-який поганий контроль на поверхні силосу піддає силосну масу тривалому контакту з повітрям. Виходячи з цього дріжджі (наприклад *Candida*, *Endomycopsis*, *Hansenula*, *Pichia* деградують молочну кислоту на вуглекислий газ і воду, виробляючи надмірну кількість тепла (процес зігрівання силосу), що призводить до втрати поживних речовин [8]). Деградація молочної кислоти також підвищує рН силосу до рівня, який дозволяє опортуністичних

бактерій (наприклад, *Bacillus*) і пліснявих грибів (наприклад, *Aspergillus*, *Fusarium* і *Penicillium*), для зростання і подальшого зниження якості силосу.

Застосування лактобацил в силосуванні має 3 стратегії по використанню для кукурудзяного силосу, які проявляються у використанні наступних груп силосних заквасок [9]: на основі облигатно-гомоферментативних облигатно-гетероферментативних молочнокислих бактерій, комбіновані інокулянти, що містять як облигатно-гетероферментативні так і облигатно-гомоферментативні або факультативно-гетероферментативні молочнокислі бактерії.

Факультативно-гетероферментативні молочнокислі бактерії відрізняються від облигатних-гомоферментативних, тим що в них наявна фосфокетолаза. Цей фермент дозволяє їм розкласти пентози, продукуючи в першу чергу молочну і оцтову кислоти. Загальні факультативно-гетероферментативні штами включають переважно представників лактобацил *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus casei*. Силоси, що обробляються однією або більшою кількістю цих бактерій часто мають низький рівень рН, оцтової, масляної кислот і аміаку, та вищий вміст молочної кислоти, що загалом виявляє краще відновлення сухих речовин порівняно з необробленими силосами [10]. Інокуляція також збільшує кількість дріжджів у кормах, і знижує їх аеробну стабільність [11]. Так як, дріжджі зазвичай є ініціаторами аеробного псування, то знижена концентрація оцтової кислоти від інокуляції гомоферментативних молочнокислих бактерій сприяє більшій швидкості росту дріжджів, і таким чином, зниження аеробної стабільності силосу.

До застосування гетероферментативних інокулянтів дослідники вдалися дещо пізніше ніж гомоферментативних. Гетероферментовані кукурудзяні силоси порушують традиційні заходи якості, наприклад, вони мають помітно знижене співвідношення молочної кислоти до оцтової. Однак наявні дані для силосів зернових культур не показують негативного впливу гетероферментних силосів на продуктивність корів [12]. Найперспективнішими представниками гетероферментативних молочнокислих бактерій є *Lactobacillus buchneri*, *Lactobacillus diolivorans*, *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus kefir*, *Lactobacillus hilgardii*.

Розробка заквасок, які поєднують факультативно і облигатно-гетероферментативні молочнокислі бактерії, має на меті досягнення переваг обох типів інокулянтів в один продукт. Факультативно-гетероферментативні будуть контролювати період ранньої активної ферментації, тим самим знижувати популяції ентеробактерій, клостридій та інших мікроорганізмів, а отже, зниження протеолізу і ферментаційних втрат сухих речовин. У цей період активного бродіння очікується, що рН знизиться швидше і до більш низького значення, ніж у необробленому силосі. Обов'язок гетероферментативних МКБ (в більшості випадків *L. buchneri*) після цього повільно перетворити молочну кислоту в оцтову кислоту (а також пропіонову) в період активної ферментації

силосу, знижувати значення рН і поліпшувати аеробну стійкість силосу [13].

Метою наших досліджень є визначення біохімічних показників якості силосу, заготовленого із кукурудзи із застосуванням бактеріального препарату «Сінсил-ТІММ». Препарат розроблено фахівцями Інституту продовольчих ресурсів НААН України. До складу препарату залучено високоактивні штами лакто- та пропіоновокислих бактерій, а саме: *Lactobacillus plantarum*, *L. acidophilus*, *L. brevis*, *L. rhamnosus*, *L. paracasei ssp. paracasei*, *Streptococcus thermophilus*, *Propionibacterium shermanii subsp. shermanii* Всі штами які були застосовані для виготовлення закваски, були виділені з природних джерел.

Матеріали та методи роботи. Технологічні дослідження по силосуванню були про- ведені відповідно до вимог «Методики проведення дослідів з кормовиробництва і годівлі тварин»[14].

Процес починався з закладки силосу у бетонну траншею. Сировиною виступала кукурудза з вологістю 70-75%. Після закладання силос утрамбовувався для належного ущільнення та накривався плівкою. Після трьох місяців зберігання було визначено якісні показники силосу, його хімічний склад та аеробну стабільність. Готовий силос аналізували на вміст органічних кислот, визначали кислотність, збереження сухих речовин (СР), вміст сирого протеїну (СП), аміаку, лігніну, нейтрально- та кислотно-детергентної клітковини (відповідно НДК та КДК). За цими показниками характеризували якість бродіння. Також була проведена органолептична оцінка силосу. Аналіз кормів проводили за загальноприйнятими методиками [15].

Для дослідження було відібрано два зразки силосу, одним з яких був дослідний, тобто з додаванням бактеріального препарату, та другий – контрольний, без інокуляції.

Результати досліджень та їх обговорення. Досліджували кукурудзяний силос через 120 днів від закладання сировини в траншеї. Аналіз органолептичних характеристик силосу наведено в таблиці 1.

Відповідно до результатів представлених в таблиці 1 силос заквашений на основі біопрепарату «Сінсил-ТІММ» характеризується дуже доброю якістю органолептичних параметрів, завдяки яким забезпечується висока харчова привабливість для тварин.

Таблиця 1

Органолептичні характеристики силосу

Показник	Дослід	Контроль
Колір	Здебільшого зеленого кольору іноді з жовто-зеленим відтінком	Буро-світло-зеленуватий колір
Запах	Приємний фруктовий запах якісного силосу	Неприємний запах
Смак	Кислий приємний смак	Кислий смак
Консистенція	Подрібнені шматочки мають чітку структуру, і легко відділяються один від одного, без ознак ослизнення.	Структура збережена, З'явилися перші ознаки плісняви

Отже дослідний зразок мав жовто-зелений колір, а в контрольному зразку переважав темно-коричневий колір. Доброякісний дослідний зразок мав фруктовий запах, а контрольний зразок мав запах оцтової кислоти. За консистенцією зразки майже не відрізнялися, але контрольний зразок мав перші ознаки плісняви.

Результати проведеного аналізу зразків за хімічним складом наведено на рис. 1.

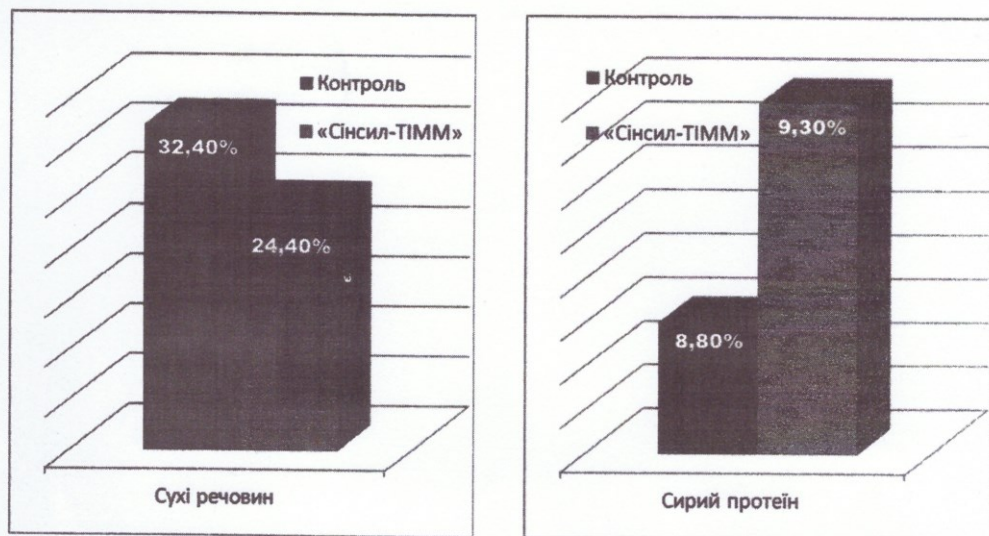


Рис. 1. Вміст сухих речовин та сирого протеїну в контрольному та дослідному силосах

Як показано на рис. 1 силос одержаний з застосуванням препарату «Сінсил-ТІММ» має нижче значення вмісту сухих речовин після 120 добової ферментації – 24,4% в порівнянні з контрольним силосом, для якого це значення склало – 32,4%. Такі втрати пояснюються конверсією водорозчинних вуглеводів силосу культурами препарату в молочну та оцтову кислоти. Відповідно до ДСТУ 4782:2007 за вмістом сухої речовини до 25% силос належить до першого класу силосу, та 20% для другого класу.

За вмістом сирого протеїну, дослідний зразок характеризувався збереження цього показнику на рівні – 9,3%, в порівнянні зі значенням контролю – 8,8%. Відповідно значення лежить в межах норми для першого класу силосу – 10% та другого – 9%. Таке збереження протеїну є особливо важливим для харчової цінності збідненої на протеїн сировини, такої як кукурудза.

У відповідності до рис. 2 можна побачити, що силос оброблений препаратом має вищий вміст молочної кислоти (6,5% в порівнянні з 5,69% контролю) і відповідно, але нижче значення рН (3,8 до 3,84 у контролі) хоча і

лише на 0,04 одиниці. Це значення цілком відповідає вимогам до рН в силосі з вмістом сухої речовини 15-25%, яке знаходиться в діапазоні 3,8-4,3 од.



Рис. 2. Вміст молочної та оцтової кислот у контрольному та дослідному силосах та

Особливу роль у збереженні такого силосу відіграє оцтова кислота (5,25% до 2,17 у контролі), адже саме вона забезпечує зниження вмісту дріжджів та плісняви під час останньої фази силосування. Проте у відповідності ДСТУ 4782:2007 вміст оцтової кислоти має бути меншим за 3,5 %, що вказує на збільшену ацетогенну активність мікробіоти в процесі ферментації. Таким чином попри краще збереження силосу такий вміст оцтової кислоти має негативні наслідки в харчовій цінності для тварин.

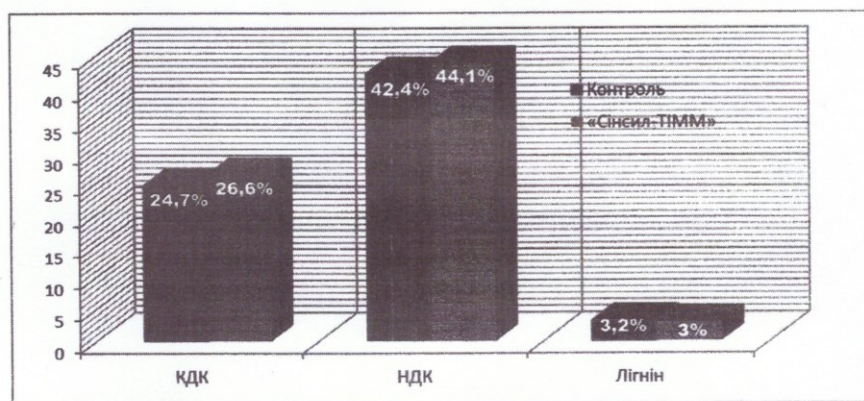


Рис. 3. Параметри перетравлюваності силосу (КДК та НДК– кислотна та нейтрально-детергентна клітковина)

Подальший аналіз було направлено на дослідження показників перетравлюваності корму (рис. 3). Значення цих параметрів показало, що обробка препаратом, за вмістом кислотна та нейтрально-детергентної

клітковини по відношенню до загальному вмісту сухих речовин збільшилися на 1,9% для КДК та 1,7% для НДК. Проте щодо вмісту лігніну, то це значення покращилося в порівнянні з контролем, а саме воно зменшилося на 0,2%.

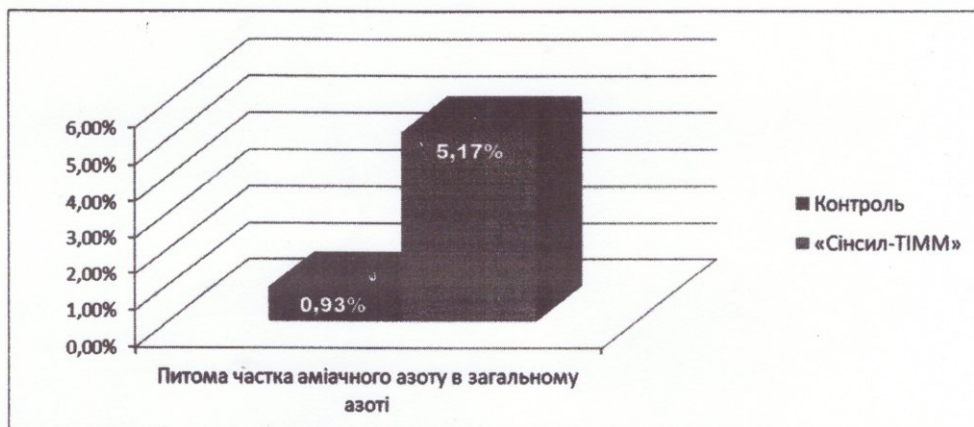


Рис. 4. Параметри перетравлюваності силосу }

На рис. 4 показано вміст аміачного азоту по відношенню до загального азоту. Як видно з діаграми, то додавання препарату «Сінсил-ТІММ» призвело до збільшення аміачного азоту до 5,17% від загального азоту, в порівнянні з контролем 0,93%. У відповідності до встановлених державних норм, цей показник у силосі першого класу, не має перевищувати 10%.

Висновки та перспективи подальших досліджень. Результати показали, що застосування препарату «Сінсил-ТІММ», в силосуванні кукурудзи, дозволяє отримати силос першого класу відповідно до ДСТУ 4782:2007 за такими показниками: вміст сухих речовин, рН, вміст молочної кислоти, лігніну та питома частка аміачного азоту в загальному азоті. Виявлено, що загальна перетравлюваність є меншою в порівнянні з контрольним. Таким чином, препарат «Сінсил-ТІММ» можна рекомендувати до промислового використання.

Список використаної літератури

1. Dann H.M., Grant R.J., Cotanch K.W. Comparison of brown midrib sorghum-sudangrass with corn silage on lactational performance and nutrient digestibility in Holstein dairy cows. *J Dairy Sci.* 2008. 8(91). P. 663-672.
2. Aksu, T., Baytok, E., & Bolat, D. Effects of a bacterial silage inoculant on corn silage fermentation and nutrient digestibility. *Small Ruminant Research.* 2004. № 1-3(55). P. 249-252.
3. USDA. Agricultural Statistics 1991. U.S. Government Printing Office, Washington, DC.
4. Кулик М.Ф., Калетник Г.М., Овсієнко А.І. [та ін.] Консерванти і поживність кормів. Київ. Урожай, 1992. 208 с.
5. Andersson, L., Lundstrom, K. Effect of feeding silage with high butyric acid content on ketone body formation and milk yield in postparturient dairy cows. *Zentralbl. Veterinarmed. A.* 1985. 32. P. 15-23.

6. CAST. Mycotoxins: Risks in plant, animal, and human systems. Task Force Report 2003.No. 139. Council for Agricultural Science and Technology, Ames, IA.
7. Driehuis, F. Silage and the safety and quality of dairy foods: A review. *Agric. Food Sci.* 2013. 22. P. 16-34.
8. Pelhate, J. Maize silage: Incidence of moulds during conservation. *Folia Vet. Lat.* 1977. 7. P. 1-16.
9. Muck R.E, Nadeau E.M.G, Contreras-Govea F.E. Silage review: recent advances and future uses of silage additives. *J. Dairy Sci.* 2018. 101. P. 3980-4000.
10. Muck R.E., Kung Jr.L. Field to Feedbunk. Proc. Silage, NY: NRAES. 1997. P.99.
11. Oliveira A.S., Weinberg Z.G., Ogunade I.M. Meta-analysis of effects of inoculation with homofermentative and facultative heterofermentative lactic acid bacteria on silage fermentation, aerobic stability, and the performance of dairy cows. *J. Dairy Sci.* 2017. 100. P.4587-4603.
12. Taylor C.C., Ranjit N.J., Mills J.A. The effect of treating whole-plant barley with *Lactobacillus buchneri* 40788 on silage fermentation, aerobic stability, and nutritive value for dairy cows. *J. Dairy Sci.* 2002. 85 P.1793-1800.
13. Driehuis F., Oude Elferink S. J. W.H., Van Wijkelaar P.G. Fermentation characteristics and aerobic stability of grass silage inoculated with *Lactobacillus buchneri*, with or without homofermentative lactic acid bacteria. *Grass Forage Sci.* 2001. 56 P. 330-343.
14. Бабич А.О. Методика проведення дослідів з кормовиробництва і годівлі тварин.– Київ. Аграрна наука, 1998. 80 с.
15. Петухова Е.А., Бессарабова Р.Ф., Халенева Л.Д., Антонова О.А. Зоотехнический анализ кормов. Москва. Агропромиздат, 1989. 239 с.

References

1. Dann H.M., Grant R.J., Cotanch K.W. (2008). Comparison of brown midrib sorghum-sudangrass with corn silage on lactational performance and nutrient digestibility in Holstein dairy cows. *J Dairy Sci.* 8(91). 663-672.
2. Aksu, T., Baytok, E., & Bolat, D. (2004). Effects of a bacterial silage inoculant on corn silage fermentation and nutrient digestibility. *Small Ruminant Research.* 1-3 (55). 249-252.
3. USDA. Agricultural Statistics 1991. U.S. Government Printing Office, Washington, DC.
4. Kulyk M.F., Kaletnyk H.M., Ovsiienko A.I. [ta in.] (1992) Konservanty i pozhyvnist kormiv [Preservatives and nutrition of feed]. *Keiv. Urozhai.* 208.
5. Andersson, L., Lundstrom, K. (1985). Effect of feeding silage with high butyric acid content on ketone body formation and milk yield in postparturient dairy cows. *Zentralbl. Veterinarmed. A* 32. P. 15-23.
6. CAST. Mycotoxins: Risks in plant, animal, and human systems. Task Force Report 2003.No. 139. Council for Agricultural Science and Technology, Ames, IA.
7. Driehuis, F. (2013). Silage and the safety and quality of dairy foods: A review. *Agric. Food Sci.* 22. 16-34.
8. Pelhate, J. (1977). Maize silage: Incidence of moulds during conservation. *Folia Vet. Lat.* 7. 1-16.
9. Muck R.E, Nadeau E.M.G, Contreras-Govea F.E. (2018). Silage review: recent advances and future uses of silage additives. *J. Dairy Sci.* 101. 3980-4000.
10. Muck R.E., Kung Jr.L. (1997). Field to Feedbunk. Proc. Silage, NY: NRAES. 99.
11. Oliveira A.S., Weinberg Z.G., Ogunade I.M. (2017). Meta-analysis of effects of inoculation with homofermentative and facultative heterofermentative lactic acid bacteria on silage fermentation, aerobic stability, and the performance of dairy cows. *J. Dairy Sci.* 100. 4587-4603.
12. Taylor C.C., Ranjit N.J., Mills J.A. (2002). The effect of treating whole-plant barley with *Lactobacillus buchneri* 40788 on silage fermentation, aerobic stability, and nutritive

- value for dairy cows. *J. Dairy Sci.* 85. 1793-1800.
13. Driehuis F., Oude Elferink S. J. W. H., Van Wijkelaar P.G. (2001). Fermentation characteristics and aerobic stability of grass silage inoculated with *Lactobacillus buchneri*, with or without homofermentative lactic acid bacteria. *Grass Forage Sci.* 56. 330-343.
14. Babych A.O.(1998) *Metodyka provedennia doslidiv z kormovyrobnytstva i hodivli tvaryn* [Methods of conducting experiments on animal feed production and feeding]. Kyiv: Ahrarna nauka. 80.
15. Petukhova E.A., Bessarabova R.F., Khaleneva L.D., Antonova O.A. (1989). *Zootekhnicheskij analiz kormov* [Zootechnical analysis of feed]. 2-e izd., dop i pererab. Moscow. Agropromizdat. 239.

АННОТАЦИЯ

ЛАКТОБАКТЕРИИ ДЛЯ СИЛОСОВАНИЯ РАСТИТЕЛЬНОГО СЫРЬЯ

Даниленко С.Г., доктор технических наук
Хонько М.А., специалист отдела биотехнологии
Искра К.А., специалист отдела биотехнологии
Институт продовольственных ресурсов НААН Украины

Силосование эффективный способ консервирования растительного сырья. В частности, одним из способов получения качественного силоса с высокой питательной ценностью является использование биопрепаратов на основе лактобацилл. Широко используются комбинированные препараты, в которых сочетаются высокоактивные штаммы разных таксономических групп, которые обуславливают быстрое снижение pH до 4,0-4,2 и продуцированию широкого спектра антимикробных метаболитов, таких как молочная, уксусная, пропионовая кислоты и другие летучие жирные кислоты. В этом исследовании изучался биопрепарат «Синсил-ТИММ» для силосования кукурузы.

Было установлено, что препарат характеризуется высокой активностью по накоплению молочной и уксусной кислот, которые обеспечивают антагонистическую активность против анаэробной и аэробной микрофлоры. Также было установлено, что силос обработанный препаратом «Синсил-ТИММ» характеризуется меньшей потерей сырого протеина. Также было выявлено снижение сухого вещества. Содержание клетчатки увеличилось, однако характерно уменьшилось содержания лигнина. По органолептическим показателям силос характеризуется приятным фруктовым запахом, был оливкового цвета, консистенция частиц силоса является плотной, их можно легко отделить друг от друга, а также отсутствовало ослизнения. Согласно ДСТУ 4782: 2007 силос было отнесено к первому классу.

Ключевые слова: лактобациллы, кукурузный силос, биопрепарат, силосования

Рис. 4. Табл. 1. Лит. 15.

ANNOTATION

LACTOBACILLI FOR ENSILING PLANT RAW MATERIALS

Danylenko S.G., Doctor of Technical Sciences
Khonkov M.A., Specialist in the department of biotechnology
Iskra K.A., Specialist in the department of biotechnology
Institute of Food Resources of NAAS of Ukraine

Ensiling is an effective way to preserve vegetable raw materials. In particular, the use of lactobacilli-based biological products is one of the possible ways to obtain high-quality nutritional

ensilage. In particular, composite preparations are widely used, these combining highly active strains that cause rapid pH reduction to 4.0-4.2 and produce a wide range of antimicrobial metabolites such as lactic, acetic, propionic acids and other volatile fatty acids. In this study, the biological preparation «Sinsyl-TIMM» for corn silage was studied.

It was found that the preparation is characterized by high activity on the accumulation of lactic and acetic acids, these providing antagonistic activity against anaerobic and aerobic spoilage microflora. It was also found that the ensilage treated with the «Sinsyl-TIMM» preparation is characterized by a decrease in the loss of crude protein. A decrease in dry matter was also detected. The fiber content increased but the lignin content decreased. The sensorial characteristics of the silo are characterized by green color, a pleasant fruity odor, the consistency of the ensilage particles is dense, they can be easily separated, and there is no slippage. According to DSTU 4782: 2007 the ensilage was qualified as the first class.

Keywords: lactobacilli, corn ensilage, biological product, ensilage

Fig. 4. Tab. 1. Ref. 15.

Інформація про авторів

ДАНИЛЕНКО Світлана Григорівна, доктор технічних наук, старший науковий співробітник, завідувач відділу біотехнології, Інститут продовольчих ресурсів Національної академії аграрних наук (м. Київ, вул. Євгена Сверстюка, 4 а; e-mail: svet1973@gmail.com)

ХОНЬКІВ Мирослав Олександрович, фахівець відділу біотехнології, Інститут продовольчих ресурсів Національної академії аграрних наук (м. Київ, вул. Євгена Сверстюка, 4а; e-mail: svet1973@gmail.com)

ІСКРА Ксенія Олександрівна, фахівець відділу біотехнології, Інститут продовольчих ресурсів Національної академії аграрних наук (м. Київ, вул. Євгена Сверстюка, 4а; e-mail: svet1973@gmail.com)

ДАНИЛЕНКО Светлана Григорьевна, доктор технических наук, старший научный сотрудник, заведующий отделом биотехнологии, Институт продовольственных ресурсов Национальной академии аграрных наук (г. Киев, ул. Евгения Сверстюка, 4а; e-mail: svet1973@gmail.com)

ХОНЬКИВ Мирослав Александрович, специалист отдела биотехнологии, Институт продовольственных ресурсов Национальной академии аграрных наук (г. Киев, ул. Евгения Сверстюка, 4а; e-mail: svet1973@gmail.com)

ИСКРА Ксения Александровна, специалист отдела биотехнологии, Институт продовольственных ресурсов Национальной академии аграрных наук (г. Киев, ул. Евгения Сверстюка, 4а; e-mail: svet1973@gmail.com)

DANYLENKO Svitlana, Doctor of Technical Sciences, Senior Researcher, Head of Department of Biotechnology, Institute of Food Resources of NAAS, (Kyiv, str. Yevhen Sverstiuk, 4 a, e-mail: svet1973@gmail.com)

KHONKIV Myroslav, Specialist in the department of biotechnology, Institute of Food Resources of NAAS, (Kyiv, str. Yevhen Sverstiuk, 4 a, e-mail: svet1973@gmail.com)

ISKRA Kseniia, Specialist in the department of biotechnology, Institute of Food Resources of NAAS, (Kyiv, str. Yevhen Sverstiuk, 4 a, e-mail: svet1973@gmail.com)