

*А.В. Чижаева¹, Г.Н. Дудикова¹, М.Т. Велямов¹, И.Ю. Потороко²,
Ж.С. Алимкулов¹, Н.П. Бутыркина¹, Ш.М. Велямов¹,
Л.А. Курасова¹, Т.М. Жумалиева¹*

¹Казахский научно-исследовательский институт перерабатывающей и пищевой промышленности, г. Алматы, Казахстан

²Южно-Уральский государственный университет, г.Уральск, Казахстан

РАЗРАБОТКА СИНБИОТИКА ДЛЯ КОРМОВЫХ ДОБАВОК НА ОСНОВЕ ОТХОДОВ ПИВОВАРЕННОЙ И СПИРТОВОЙ ПРОМЫШЛЕННОСТИ

Аннотация. Проблема применения вторичных ресурсов в качестве источников кормов зачастую связана с тем, что отходы перерабатывающих и бро-дильных производств являются скоропортящимся сырьем. Цель исследования – создание препарата синбиотика на основе молочнокислых бактерий, позволяющего улучшить санитарное состояние, продлить срок хранения и повысить качество кормов на основе отходов пивоваренной, спиртовой и др. промышленности. На основе отечественных штаммов молочнокислых бактерий был создан пробиотический консорциум и разработан препарат синбиотик, обладающий антагонистическими свойствами против споровых бактерий и плесневых грибов, загрязняющих компоненты кормовых добавок и комбикормов. Введение синбиотка в кормовые добавки позволило получить новый отечественный, качественный и безопасный пробиотический кормовой продукт, который может заменять зерновое сырье в составе комбикормов и улучшать санитарное состояние кормов.

Ключевые слова: синбиотик, молочнокислые бактерии, кормовая добавка, пивная дробина, спиртовая барда.

• • •

Түйіндеме. Қалдықтық ресурстарды мал азығының көзі ретінде пайдаланудың проблемасы сол, еңдеу және ашыту салаларындағы қалдықтар тез бұзылатын шикізат болып табылады. Зерттеудің мақсаты – сыра қайнату, спирт өндіру және басқа салалардың қалдықтарынан өндірілетін мал азы-

Представленные исследования выполнены в рамках ПЦФ 2018-2020 «Разработка интенсивных технологий по отраслям животноводства», финансируемой МСХ РК.

ғының санитарлық жағдайын жақсартуға, сақтау мерзімін ұзартуға және сапасын арттыруға мүмкіндік беретін сүт қышқылды бактериялар негізіндегі синбиотикалық препаратты құру. Сүт қышқылды бактериялардың отандық штамдарын негізге ала отырып, біз азықтық қоспалар мен құрама жемдердің споралы бактериялары мен зең саңырауқұлақтарына, ластаушы компоненттеріне қарсы антагонистік қасиеттері бар пробиотикалық консорциум құрып, синбиотикалық препарат әзірледік. Азықтық қоспалар құрамына синбиотикті енгізу құрама жем құрамындағы астық шикізатын алмастырып, мал азығының санитарлық жағдайын жақсартатын жаңа отандық, жоғары сапалы және қауіпсіз пробиотикалық мал азығы енімін алуға мүмкіндік берді. **Түйінді сөздер:** синбиотик, сүт қышқылды бактериялар, азықтық қоспалар, сыра бытырасы, спирт тебі.

• • •

Abstract. The problem of application of secondary resources as sources of forages is often bound to the fact that processing and tuning wastage is perishable raw materials. The objective of this research - creation preparation of sinbiotic on the basis of lactic acid bacteria allowing to improve sanitary state, to prolong storage life and to increase quality of forages on the basis of a brewing, spirit wastage. On the basis of domestic strains of lactic acid bacteria we created probiotic consortium and developed sinbiotic preparation, having antagonistic properties against the sporous bacteria and mold fungi polluting components of feed additives and compound feeds. Introduction of the sinbiotic in feed additives allowed receiving new domestic, quality and safe probiotic fodder product that can replace grain raw materials as a part of compound feeds and improve a sanitary condition of forages.

Key words: sinbiotic, lactic acid bacteria, feed additive, beer pellet, spirit grain stillage.

Введение. В получении экологически безопасных продуктов животноводства присутствует серьезная проблема. Для интенсивного выращивания мясного КРС необходимо использование высококачественных сбалансированных комбикормов. Особую чувствительность к их качеству проявляет молодняк. Однако, зачастую качество корма оставляет желать лучшего. Повинны в этом, прежде всего, недоброкачественность и дефицит некоторых видов компонентов для производства кормов. Немаловажную роль играет бактериальная обсемененность компонентов комбикормов, в том числе и микроор-

ганизмами, являющимися этиологическим агентами в патологиях животных. В Казахстане желудочно-кишечные болезни молодняка с/х животных, птиц и рыб составляют большую часть из всех регистрируемых болезней незаразной этиологии. Так, во многих хозяйствах республики болеет от 35 до 52% телят. Удельный вес болезней органов пищеварения крупного рогатого скота составляет 38,34%, в т.ч. болезни молодняка – 48,76 %. Осложняет ситуацию антибиотикорезистентность современных возбудителей, которая делает необходимым поиск альтернативных более физиологичных и безопасных средств для профилактики и лечения, способных занять свое место в системе мероприятий по обеспечению биологической защиты животных.

С этих позиций пробиотики следует рассматривать как эффективную альтернативу антибиотикам, как часть рационального потенциала животных, поддержания их здоровья и получения продукции высокого качества, безопасной как в бактериальном, так и в химическом отношении [1-4]. Пробиотики и синбиотики, основу которых составляют живые микробные культуры, продуцирующие бактериоцины, используют для стимуляции неспецифического иммунитета, профилактики и лечения при смешанных желудочно-кишечных инфекциях, расстройствах пищеварения алиментарной этиологии (дисбактериозы, острые молочно-кислые ацидозы и др.), возникающих вследствие резкого изменения состава рациона, нарушений режимов кормления, технологических стрессов и других причин, переустановления микробиоценоза пищеварительного тракта после лечения антибиотиками и другими антибактериальными химиотерапевтическими средствами, замены антибиотиков в комбикормах для молодняка животных, пушных зверей и птицы, улучшения процессов пищеварения, ускорения адаптации животных к высокоэнергетическим рационам и небелковым азотистым веществам, повышения эффективности использования корма и продуктивности животных [5-10]. Применение пробиотиков в кормах для животных также оправдано в случае использования в кормовых добавках и комбикормах вторичного сырья.

Сегодня рынок кормовых добавок, в том числе пробиотических, в Казахстане развивается довольно быстрыми темпами. Увеличение спроса на них объясняется, с одной стороны, повышением цен на продукцию животноводства, а с другой – государственной поддерж-

кой этой отрасли в виде дотаций и льготных кредитов. Открытие таможенных границ позволяет закупать кормовые добавки лучших мировых брендов. Типичным представителем пробиотиков являются российские препараты «Ликвипро» и «Целлобактерин» фирмы Биотроф, действующим началом которых являются целлюлолитические бактерии, проявляющие высокую антагонистическую активность по отношению к патогенным и условно-патогенным микроорганизмам, нормализующие деятельность пищеварительной системы сельскохозяйственных животных, способствующие более быстрому формированию микрофлоры преджелудков телят и повышающие эффективность использования грубых кормов [11].

Кормовая добавка OLIN (Фирма Пробиотик плюс) для различных групп животных и птиц, содержащая в составе штаммы *Bacillus subtilis* DSM 21097 и *Bacillus licheniformis* DSM 21098, защищенные от копирования, применяется с первых дней жизни с целью: устранения и предотвращения диарии путём вытеснения патогенных бактерий, стабилизации кишечной микропоры и создания защитного барьера от патогенной микрофлоры, стимуляции локальной иммунной системы и создания защитного противовирусного барьера, формирования полезной микрофлоры кишечника для нормализации пищеварения и повышения привесов [12].

Украинская компания «Биохим сервис» разработала кормовую добавку Энтеронорм. В ее состав входят молочнокислые и споровые бактерии (не указана какие) и автолизат пивных дрожжей с хитозаном. Добавка служит для профилактики желудочно-кишечных заболеваний у подсосных поросят, для обработки раствором препарата (20,0г на 1000мл) места локализации поросят (домики, клетки). С лечебной целью применяют как самостоятельно, так и совместно с другими, в том числе антимикробными препаратами [13]. В линейке продукции отечественных производителей нет кормов с пробиотической направленностью. Аналогичных (пробиотических) кормовых препаратов и комбикормов по состоянию на февраль 2017 г. в Государственном реестре ветеринарных препаратов, кормов и кормовых добавок РК (по данным Комитета ветеринарного надзора и контроля МСХ РК) на территории Казахстана не зарегистрировано [14].

В связи с этим, производство отечественных пробиотических препаратов, специализированных высококачественных кормовых до-

бавок и комбикормов пробиотического действия для животноводства является актуальным и способствует повышению продуктивности в мясном животноводстве, развитию рынка продукции экологической животноводческой продукции собственного производства, снижению импортозависимости по кормам согласно государственной программе развития агропромышленного комплекса Республики Казахстан.

Цель работы – создание препарата синбиотика на основе молочнокислых бактерий, позволяющего улучшить санитарное состояние, продлить срок хранения и повысить качество кормов на основе отходов пивоваренной, спиртовой и др. промышленности.

Методы исследований. Исследование молочнокислых бактерий, активность молочнокислых бактерий и микрофлоры сырья осуществлялось стандартными методами, принятыми в микробиологии [15,16]. Определение санитарного состояния образцов сырья, и кормовой добавки проводят по ГОСТ 1044.12.-88, по ГОСТ Р 54065-2010 Средства лекарственные для животных пробиотические. Методы определения пробиотических микроорганизмов. Выработка опытных партий пробиотического препарата и кормовой добавки для сельскохозяйственных животных будет проводиться в лабораторных условиях и на экспериментальной (пилотной) установке КазНИИ ППП.

Основные результаты. Для разработки синбиотика, который будет придавать кормовым добавкам на основе отходов спиртовой, пивоваренной и крахмало-паточной промышленности пробиотические свойства и улучшит их санитарное состояние был проведен скрининг пробиотических штаммов молочнокислых бактерий, входящих в коллекцию промышленных культур КазНИИ перерабатывающей и пищевой промышленности и создан консорциум высокоактивных культур молочнокислых бактерий с коллекционными номерами – (B-449) *Lactobacillus pontis* 67, (B-7) *Lb. casei* 22, (B-446) *Lb. paracasei* 104. Эти культуры имеют генетические паспорта с идентифицированной последовательностью фрагмента гена *16S r.RNA*.

Для всесторонней оценки пробиотических свойств были уточнены физиолого-биохимические свойства культур, составляющих консорциум: кислотообразующая, антагонистическая активность, сахаролитический профиль, устойчивость к различным концентрациям желчи, поваренной соли, рост при различных показателях pH, антибиотикорезистентность, а также биосовместимость штаммов.

Лактобактерии в процессе метаболизма образуют органические кислоты, в том числе молочную кислоту и ряд короткоцепочечных жирных кислот, важных для проявления антагонистической активности, активации мышечных ферментов, гидролиза белков и т.д. [17]. Результаты определения активности кислотообразования у 3 штаммов молочнокислых бактерий представлены в таблице 1, энергия кислотообразования у исследуемых культур имела границы от 89°Т до 254°Т. При сравнении энергии кислотообразования культур с их антагонистической активностью по отношению к *Bacillus subtilis* ATCC 6633 (эталонным штаммом для определения антибиотической активности), можно сделать вывод, что антагонизм культур лактобактерий в данном случае, возможно, связан не только с образованием ими кислот, но и с синтезом бактериоцинов. Так, культура *Lb. casei* 104 накапливая меньше кислоты (89°Т), проявляют довольно высокую антагонистическую активность, сравнимую с активностью культуры *Lactobacillus pontis* 67, являющейся сильным кислотообразователем (до 249±9,7°Т).

Таблица 1 - Характеристика физиолого-биохимических показателей коллекционных культур молочнокислых бактерий

Штамм	pH	Титруемая кислотность, °Т	Антагонистическая активность, (к <i>Bacillus subtilis</i> ATCC-6633), диаметр зоны, мм
<i>Lb. pontis</i> 67	4,0	249±9,7	21±1,3
<i>Lb. casei</i> 22	4,1	241±9,6	22±1,0
<i>Lb. paracasei</i> 104	5,1	89±4,1	21±1,2

Исследованные культуры молочнокислых бактерий каталаза не образуют, однако имеют окислительно-восстановительные ферменты (обладают дегидрогеназной активностью). Распространенным методом косвенного определения ферментативной активности молочнокислых бактерий является применение индикаторов-красителей, восстановленные формы которых под действием ферментов микроорганизмов изменяют окраску. Определялась активность молочнокислых бактерий по скорости перехода голубой окраски метиленовой сини (0,01% р-р) в бесцветную. Показано, что в односуточных чистых культурах молочнокислых бактерий (кислотностью 9-10°Н) начало обесцвечивания метиленовой сини отмечалось через 23-25 мин, пол-

ное обесцвечивание наступало через 50-70 мин. Это свидетельствует о высокой ферментативной активности культур. Все культуры за 24 ч. полностью восстанавливают 0,3 % раствор метиленовой сини.

Активный рост при концентрации желчи в среде 20, 30 и 40% проявляли все исследованные штаммы, вследствие чего они считаются высоко устойчивыми к желчи и могут использоваться для производства пробиотических препаратов. Все исследуемые штаммы хорошо росли в питательной среде, содержащей 2 и 4 % NaCl. Однако, при концентрации 6 % NaCl в питательной среде проявляли рост только штаммы *Lactobacillus pontis* 67 и *Lb. casei* 22, эти штаммы давали хороший рост по всей длине столбика культуральной жидкости. Исследование возможности роста культур молочнокислых бактерий в среде при значениях pH 8,3; 9,2 и 9,6, показало, что все культуры растут при pH 8,3 и 9,2. В среде с pH 9,6 не росла ни одна из исследуемых культур.

Устойчивость к антибиотикам является важным генетическим свойством штамма. В последнее время, пересмотрено отношение к антибиотикорезистентности пробиотических культур. В опытах *in vitro* показано, что при определенных условиях есть риск передачи гена антибиотикоустойчивости пробиотических культур к патогенным микроорганизмам. При исследовании резистентности наших культур молочнокислых бактерий к 12 антибиотикам подтверждено наличие в среди них как штаммов, вообще не имеющих генов резистентности к антибиотикам, так и штаммов, устойчивых к некоторым антибиотикам (таблица 2).

Таблица 2 - Чувствительность молочнокислых бактерий к антибиотикам

Штамм	Зона задержки роста (мм)											
	tetracyclin	nitrofurantoin	kanamycin	doxycycline	ampicillin	gentamicin	pefloxacin	vancomycin	lincomycin	furasolidone	Benzylpenicillin	erythromycin
<i>Lb. pontis</i> 67	24	38	15	32	28	18	23	18	27	16	27	35
<i>Lb. casei</i> 22	22	36	12	27	34	21	19	24	29	20	34	35
<i>Lb. paracasei</i> 104	30	39	14	32	28	16	23	14	35	12	32	27

Все молочнокислые бактерии обладают выраженной сахаролитической активностью, что лежит в основе классических систем классификации. Все культуры молочнокислых бактерий, отобранные для специализированной коллекции, были протестированы на способность сбраживать 16 видов углеводов (таблица 3).

Таблица 3 - Сбраживание углеводов молочнокислыми бактериями

Штамм	Сбраживание углеводов															
	арабиноза	целлюбиоза	галактоза	мальтоза	манноза	мелибиоза	раффиноза	сахароза	трегалоза	ксилоза	глюкоза	фруктоза	лактоза	маннит	салцин	сорбитол
<i>Lactobacillus pontis</i> 67	-	-	+	+	-	-	-	+	-	-	+	+	-	+	+	-
<i>Lb. casei</i> 22	-	+	+	+	+	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+
<i>Lb. paracasei</i> 104	-	-	+	+	+	-	-	-	+	-	+	+	+	-	+	-

Полученные данные по способности испытуемых культур молочнокислых бактерий сбраживать различные углеводы, в целом, соответствуют видовым признакам культур, подтвержденных генотипированием.

Далее у всех культур была более широко исследована антагонистическая активность по отношению к условно-патогенным и патогенным микроорганизмам: *B. subtilis* ATCC 6633, *Escherichia coli*-1257, *Staphylococcus sp.*209-P, *Salmonella typhimurum*. Оценка антагонистической активности методом отсроченного антагонизма показала, что у штаммов *Lactobacillus pontis* 67, *Lb. casei* 22 и *Lb. paracasei* 104 антагонистическая активность по отношению ко всем тест-культурам была наиболее высокой (таблица 4).

Таблица 4 - Оценка антагонистической активности молочнокислых бактерий

Штамм	Зоны угнетения роста индикаторных культур (мм)			
	<i>Escherichia coli</i> -1257	<i>Staphylococcus sp.</i> 209-P	<i>B. subtilis</i> ATCC 6633	<i>Salmonella typhimurum</i>
<i>Lb. pontis</i> 67	21± 1,0	17±0,5	21±1,3	19±0,5
<i>Lb. casei</i> 22	23±1,1	16±0,5	22±1,0	19±0,3
<i>Lb. paracasei</i> 104	20±0,8	16±0,4	21±1,2	17±0,5

Была определена биосовместимость входящих в состав консорциума штаммов лактобацилл методом прямого совместного их культивирования на плотной питательной среде МРС, предложенным Н.А. Глушановой. Культуры *Lactobacillus pontis* 67, *Lb. casei* 22 и *Lb. paracasei* 104 оказались полностью биосовместимыми, так как обнаруживали полное «слияние пятен» между штаммами в зоне совместного культивирования (рисунок 1).



А - «слияние» пятен у штаммов *Lb. pontis* 67 и *Lb. paracasei* 104,
Б - «слияние» пятен у штаммов *Lb. casei* 22 и *Lb. paracasei* 104,
В - «слияние» пятен у штаммов *pontis* 67 и *Lb. casei* 22

Рисунок 1- Характер роста колоний у биосовместимых штаммов

Антагонизм молочнокислых бактерий к индикаторным культурам может быть обусловлен действием: органических кислот, перекиси водорода, секретлируемой некоторыми МКБ, и собственно бактериоцинами, как продуктами секреции МКБ.

Исследование бактериоциногенной активности молочнокислых бактерий и их консорциума показало, что антагонистическая активность к тест-культуре *Bacillus subtilis* ATCC 6633 была стабильна у всех трех штаммов *Lb. casei* 22+ *Lactobacillus pontis* 67+ *Lb. paracasei* 104 и их консорциума, не ингибировалась при pH 6,0 и в присутствии каталазы, т.е. была обусловлена продукцией и секрецией бактериоцинов исследуемыми штаммами (таблица 5). Консорциум лактобацилл *Lb. casei* 22+ *Lactobacillus pontis* 67+ *Lb. paracasei* 104 обладает самой сильной бактериоциногенной активностью в сравнении с монокультурами, что подтверждает эффект синергизма в консорциуме.

Таблица 5 – Супернатанты культур молочнокислых бактерий, обладающие антагонистической активностью

Штамм	Зоны угнетения роста <i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633 (мм)		
	супернатант без добавок	супернатант + NaOH (pH 6,0)	супернатант + NaOH (pH 6,0)+каталаза
<i>Lb. casei</i> 22	20±1,3	19±0,5	19±0,5
<i>Lactobacillus pontis</i> 67	21±1,0	18±0,9	18±0,8
<i>Lb. paracasei</i> 104	20±1,2	19±0,8	19±0,8
Консорциум <i>Lb. casei</i> 22+ <i>Lactobacillus pontis</i> 67+ <i>Lb. paracasei</i> 104	22±0,5	21±1,0	21±1,0

Консорциум культур молочнокислых бактерий *Lb. casei* 22+ *Lactobacillus pontis* 67+ *Lb. paracasei* 104 обладает высокой кислотообразующей, биохимической и антагонической активностью, т.е. способностью подавлять рост споровых бактерий и плесневых грибов, загрязняющих корма. Штаммы культивируются в смешанной культуре в соотношении 1:1:1 в течение 48 ч. Физиолого-биохимическая характеристика консорциума на среде МРС: титруемая кислотность - 14,6±0,8°Н, титр клеток – 2,5х10⁹ КОЕ/мл, антагонистическая активность (диаметр зоны подавления роста *B. subtilis*) – 22±0,5мм. Не менее важным свойством, которым должны обладать пробиотические культуры, является устойчивость к антибиотикам. Отобранные нами культуры МКБ устойчивы к действию канамицина, гентомицина, ванкомицина и фуразолидона. При совместном культивировании отобранных культур, достигнут принцип комплексного пробиотика - культуры микроорганизмов стабильны, биосовместимы, дополняют и усиливают активность друг друга, повышается их антагонистическая активность.

Дозирование препаратов пробиотиков варьирует в пределах от 1х10⁷ до 1х10¹⁰ КОЕ. Внесение столь высокого количества стартовых культур связано с негативным воздействием губительных факторов различного генеза [18]. Одним из способов обеспечения сохранности, стабильности и высокой биологической активности биотехнологического продукта является иммобилизация [19]. Наиболее простым, технологичным и экономичным способом иммобилизации для кормовых пробиотиков, на наш взгляд представляется способ адсорбции на энтеросорбентах или пребиотиках, что позволит усовершенствовать компонентный со-

став пробиотического препарата по типу «синбиотика», усилить и стабилизировать пробиотические свойства препарата. В связи с этим, была исследована возможность введения в состав жидкой питательной среды различных макропористых сорбентов: аморфного кремния в хелатной форме, модифицированного высокоуглеродистого шунгита (в концентрациях 50 мг/100мл, 100 мг/100мл, 500 мг/100мл питательной среды) и проведена оценка их стимулирующего и стабилизирующего эффекта. Выбранные для исследований сорбенты являются макропористыми, благодаря аморфной структуре и обладают высокой адсорбционной активностью.

В ходе исследований было показано, что кремний и шунгит не оказывают отрицательного влияния на жизнеспособность культур МКБ, более того, введение в среду МРС хелатной формы аморфного кремния и высокоуглеродистого шунгита в концентрации 100-500мг/100мл способствует повышению титра МКБ через 24 ч. культивирования до 10^{11} КОЕ/мл и проявлению большей антагонистической активности консорциума МКБ – 23-25 мм (диаметр зоны подавления роста тест культуры для определения антибиотической активности *Bacillus subtilis* ATCC 6633).

Культуральные жидкости, содержащие клетки МКБ, кремний и шунгит были заложены на хранение при 6°C для оценки стабилизирующего эффекта сорбентов в течение 5 месяцев. Установлено, что наибольшим стимулирующим и стабилизирующим эффектом высокоуглеродистый шунгит обладает в концентрации 100 мг/100 мл. Наиболее оптимальными концентрациями для сорбента аморфного кремния (хелатная форма) являются 100-500 мг/100 мл.

Сорбенты аморфный кремний в хелатной форме и высокоуглеродистый шунгит способствуют стабилизации в жидкой среде МРС количества жизнеспособных клеток консорциума МКБ на уровне 10^{11} КОЕ/мл и повышению его антагонистической активности до 26-27 мм (за счет накопления продуктов метаболизма) при хранении в течение 5 мес. Для получения жидкого пробиотического препарата консорциум молочнокислых бактерий заседали в количестве 5% в следующую питательную среду: смесь пшеничной и соевой муки + вода (гидромодуль 1:1,5) + 0,1% сорбент (модифицированный высокоуглеродистый шунгит или аморфный кремний в хелатной форме); культивирование проводили при температу-

ре $35 \pm 2^\circ\text{C}$ в течение 22 ± 2 ч. Данный технологический режим обеспечивал достижение необходимого уровня титруемой кислотности (14-16 град.), рН (3,6-3,8), максимального количества жизнеспособных клеток МКБ (10^{11} КОЕ/мл) и высокого антагонизма (26 мм). Рост микроорганизмов является автокаталитическим процессом, регуляция которого, при обычных условиях культивирования, зависит от наличия питательных веществ и продуктов метаболизма. Так, накопление метаболитов в среде и убыль питательных веществ ингибируют рост культуры клеток. Введение же в жидкую мучную среду стабилизирующих сорбентов шунгита или кремния, концентрирующих культуры и связывающих метаболиты, способствовало увеличению времени экспоненциальной и линейной фаз роста МКБ, и как следствие, увеличению скорости роста и конечного выхода биомассы, а также повышению антагонистической и пробиотической активности МКБ.

При получении сухого препарата было проведено усовершенствование компонентного состава пробиотического препарата по типу «синбиотика» методом иммобилизации (контактно-сорбционного обезвоживания) жидкого препарата на пшеничных отрубях. Пшеничные отруби сдерживают пищевые волокна и относятся к пробиотикам. Большое количество ОН – групп придаёт отрубям как сорбенту высокую гидрофильность, обеспечивает биосовместимость. При контакте с живыми клетками МКБ отруби подвергаются ферментации. В результате происходит частичный гидролиз составных компонентов отрубей, что способствует еще большему увеличению содержания аминокислот, молочной и других органических кислот в препарате [20]. Образующаяся в процессе культивирования лактобацилл с отрубями молочная и другие органические кислоты способствуют усилению всасывания ионов кальция, железа, витамина D, а также сдерживают рост посторонней микрофлоры.

Результаты исследования влияния различных режимов иммобилизации на пшеничных отрубях и последующей сушки на сохранность клеток МКБ при получении сухого пробиотика представлены в таблице 6. Как видно из данных, представленных в таблице 6, наилучшим режимом получения сухого иммобилизованного препарата МКБ на пшеничных отрубях является: гидромодуль - 1:1, температура сушки - 55°C , продолжительность сушки – 8 ч.

Таблица 6 – Влияние различных режимов получения сухого иммобилизованного пробиотика на сохранность клеток МКБ

Соотношение сорбент: жидкий препарат	Температура сушки смеси, °С	Продолжительность сушки, ч (до влажности 9%)	Титр клеток МКБ, КОЕ/г
1:0,5	45	16	10 ¹⁰
	55	12	10 ⁹
	65	8	10 ⁶
1:1	45	12	10 ¹⁰
	55	8	10 ¹¹
	65	6	10 ⁶
1:1,5	45	9	10 ⁹
	55	6	10 ⁸
	65	4	10 ⁶

При закладке на хранение в сухом препарате синбиотике определяли начальные показатели: количество жизнеспособных клеток - 10¹¹ КОЕ/г, антагонистическую активность к *B. subtilis* - 26 мм, влажность – 9%. Хранение сухого препарата в течение 4 мес. при различных режимах показало, что условиями, обеспечивающими наименьшее снижение титра живых клеток МКБ (до 10⁸ КОЕ/г) и сохранение их антагонистической активности на прежнем уровне является хранение при 4-6°С.

Далее, разработанный синбиотик был использован для получения кормовой добавки на основе пивной дробины. Исследование санитарного состояния кормовой добавки показало отсутствие в ней *E.coli*, БГКП (колиформ), патогенных микроорганизмов, в т.ч. сальмонелл. КМАФАнМ – не более 5х10³ КОЕ/г, что не превышает допустимые требования к кормовым добавкам и комбикормам. Кормовая добавка содержит живые клетки молочнокислых бактерий в количестве 10⁹ КОЕ/г. Хранение кормовой добавки при 6°С в течение 2 мес. обеспечивает сохранение титра МКБ на исходном уровне, хранение добавки в комнатных условиях приводит к снижению количества живых клеток молочнокислых бактерий на один порядок – 10⁸ КОЕ/г. Показатели качества кормовой добавки - это не постоянная величина и они будут зависеть от качества компонентов.

Обсуждение результатов. Рассматривая имеющуюся ин-

формацию с позиции безопасности предлагаемых российскими, украинскими учеными готовых серийно-выпускаемых пробиотиков, в том числе в составе кормовых добавок для сельскохозяйственных животных необходимо отметить следующее: в состав предлагаемых пробиотических препаратов и кормовых добавок входят представители обширной группы спорообразующих бактерий — *Bacillus subtilis*, *Bacillus licheniformis*, и другие. Однако, применение спорообразующих бактерий, которые в большинстве чужеродны микрофлоре кишечного тракта, в качестве пробиотиков опасно для потребителей с ослабленным иммунитетом. Кроме того, входящие в состав предлагаемой линейки препаратов штаммы микроорганизмов относятся к различным таксономическим группам, отличаются ростовыми характеристиками и требуют отдельного или многоэтапного культивирования, что не является экономически эффективным [11-13]. Все производители предлагают сухие пробиотические препараты, которые в небольших дозах (0,01-0,03%) вводят в состав уже готовых кормовых добавок, комбикормов или в кормосмеси непосредственно перед кормлением животных.

Научная новизна и принципиальное отличие предлагаемой технологии получения пробиотической кормовой добавки от известных заключается в том, что:

- синбиотик, придающий пробиотические свойства кормовой добавке состоит из консорциума отечественных высокоактивных культур молочнокислых бактерий, которые безопасны (в отличие от споровых микроорганизмов); выделены с поверхности зерна пшеницы, т.е. адаптированы к зерновым компонентам комбикормов; культуры могут культивироваться в один этап, т.к. имеют одинаковые условия и режимы культивирования;

- впервые консорциум пробиотических молочнокислых бактерий, выращенный на зерновом субстрате в жидком или сухом виде вводится на стадии смешивания компонентов кормовой добавки. На протяжении всего процесса приготовления молочнокислые бактерии оказывают положительное влияние на микробиологические показатели пивной дробины и других компонентов добавки и обогащают их продуктами жизнедеятельности. Это позволяет получать экологически чистый, безопасный готовый корм с титром живых пробиотических микроорганизмов не менее 10^9 КОЕ/мл.

Выводы. Таким образом, на основании исследований можно сделать следующие выводы:

- создан новый препарат синбиотик на основе консорциума пробиотических культур молочнокислых бактерий *Lactobacillus pontis* 67, *Lb. casei* 22 и *Lb. paracasei* 104 для кормовых добавок, вырабатываемых с использованием отходов спиртовой, пивоваренной и др. промышленности;

- иммобилизация пробиотического препарата на макропористых сорбентах высокоуглеродистом шунгите или аморфном кремнии, а также пребиотике – пшеничных отрубях позволяет усовершенствовать компонентный состав пробиотического препарата по типу «синбиотика», усилить и стабилизировать пробиотические свойства жидкого препарата в течение 5 мес. хранения, а сухого препарата – в течение 4 мес. хранения;

- введение разработанного синбиотика на основе отечественных культур молочнокислых бактерий в кормовую добавку с пивной дробинкой, улучшает ее качество и санитарное состояние.

Анализ химического и микробиологического состава выработанной опытной партий кормовой добавки с синбиотиком свидетельствует о том, что она является источником белка, жира, энергии, витаминов и живых пробиотических микроорганизмов. Получен новый качественный и безопасный пробиотический кормовой продукт, который в дальнейшем может заменять зерновое сырье, шроты и жмыхи в составе комбикормов и улучшать санитарное состояние кормов.

Список литературы

1 Волкова И. Пробиотики как альтернатива кормовым антибиотикам// Птицеводство. – 2014. – №2. – С.9-15.

2 Стоянова Л.Г., Устюгова Е.А., Нетрусов А.И. Антимикробные метаболиты молочнокислых бактерий: разнообразие и свойства (обзор) //Микробиология. – 2012 г. – №1. – С.21-32.

3 Хорошевский М.А., Афанасьева А.И. Пробиотики в животноводстве // Вестник Алтайского гос. аграр. ун-та. – 2003. – Т. 10, – № 2. – С. 290-292.

4 Гудзь Г.П., Коцаев А.Г. Использование микробных пробиотических препаратов «Бацелл» и «Моноспорин» в птицеводстве// Научные исследования и их практическое применение. Современное состояние и пути развития - 2007: Сб. науч. тр. по материалам

междунар. науч.-практ. конф. (Одесса, 1-15 окт. 2007). – 2007. – Т. 15. – С. 60-63.

5 Павлов Д.С., Егоров И.А., Некрасов Р.В., Лактионов К.С., Кравцова Л.З., Правдин В.Г., Ушакова Н.А. Использование биологически активных кормовых добавок для повышения питательных свойств комбикормов и увеличения норм ввода в комбикорма шротов и жмыхов// Проблемы биологии продуктивных животных. – 2011. – №1. – С. 89-92.

6 Прокуратова А. Пробиотики в кормах для животных// Молоко & Корма. Менеджмент. – 2007. – № 3(16).

7 Стегний Б.Т., Гужвинская С.А. Перспективы использования пробиотиков в животноводстве// Институт экспериментальной и клинической ветеринарной медицины УААН. – Харьков, 2004 – С. 10-11.

8 Eid R, Jakee JE, Rashidy A, Asfour H, Omara S, Kandil MM, Mahmood Z, Hahne J and Seida AA. Potential Antimicrobial Activities of Probiotic Lactobacillus Strains Isolated from Raw Milk// Journal Probiotic and Health. – 2016. – Vol.4. – Iss.2. – P.1030-1038.

9 Mojtaba Nouri, Nasrin Shahhosseini, Soodeh Shahhosseini, Ali Farahbakhshi and Malihe Namjoo. Investigation of Antagonistic Effects of Isolated Lactic Acid Bacteria from Different Cheeses of Gorgan City against Main Intestinal Pathogenic Bacteria// J Food Process Technol. – 2015. – №.6. – P.472.

10 Savio Sandes, Luige Alvim, Bruno Silva, Elisabeth Neumann, Jacques Nicoli and Alvaro Nunes. Local and systemic immunostimulatory effects of probiotic lactic acid bacteria isolated from cattle in germ-free mice // Journal Probiotic and Health. – 2015. – Vol.3, Is.3. – P.7.

11 Биотроф [Электронный ресурс]: Здоровый микробиом – залог продуктивности, 5.12.2018. – Режим доступа: <http://biotrof.ru>

12 Неттопласт [Электронный ресурс]: Бактерии для животноводства.- 5.12.2018.- Режим доступа: <https://nettoplast.ru/company>

13 Пробиотики для животных [Электронный ресурс]: 5.12.2018. – Режим доступа: <http://probiotic-plus.ru>

14 Web-портал ЕАСУ МСХ РК [Электронный ресурс]: - 5.12.2018.-Режим доступа: <http://portal.minagri.gov.kz/vet/dics/ListVetPreparatFodder.aspx> дата обращения

15 Руководство к практическим занятиям по микробиологии / Под ред. Егорова Н.С.-М.: Изд-во МГУ,1995. – 186 с.

16 Крूसь Г.Н, Шапыгина А.М, Волокитина З.В. Методы исследования молока и молочных продуктов. – М.: Колос, 2000. – 348с.

17 Афанасьева О.В. Микробиология хлебопекарного производства. С.-Петербург. фил. Гос. НИИ хлебопекар. промышленности (СПбФ ГосНИИХП). –СПб.: Береста, 2003. – 220с.

18 *Бондаренко В.М., Грачева Н.М.* Препараты пробиотики, пребиотики и синбиотики в терапии и профилактике кишечных дисбактериозов // Фарматека. – 2003. – № 7. – С.56-63.

19 *Потехина Н.В.* Тейхоевые кислоты актиномицетов и других грамположительных бактерий //Успехи биологической химии. – 2006. – Т. 46. – С. 225-278.

20 *Chizhayeva A., Dudikova G., Amanzhol R.* Probiotic for prevention and treatment of dysbacteriosis, a colibacteriosis and a salmonellosis of farm animals and birds// Journal of Probiotics & Health. – 2015. – Vol.3, Is.3. – P. 14.

Чижаева А.В. - кандидат биологических наук, профессор РАЕ,
e-mail: Anna_chizhaeva@mail.ru

Дудикова Г.Н. - доктор биологических наук, член-корреспондент РАЕ,
e-mail: galina.dudikova@mail.ru

Велямов М.Т. - доктор биологических наук, академик АСХН РК,
академик РАЕ, академик Национальной академии по продовольственной
безопасности РФ, e-mail: vmasim58@mail.ru

Потороко И.Ю. - доктор технических наук, профессор,
e-mail: irina_potoroko@mail.ru

Алимкулов Ж.С. - доктор технических наук, академик АСХН РК

Бутыркина Н.П. - научный сотрудник лаборатории биотехнологии,
качества и пищевой безопасности, e-mail: natalya_1804.85@mail.ru

Велямов Ш.М. - магистр технических наук, старший научный сотрудник
лаборатории биотехнологии, качества и пищевой безопасности,
e-mail: v_shukhrat@mail.ru

Курасова Л.А. - младший научный сотрудник лаборатории биотехнологии,
качества и пищевой безопасности, e-mail: l.kurasova@inbox.ru

Жумалиева Т.М. - магистр технических наук, старший научный сотрудник
лаборатории биотехнологии, качества и пищевой безопасности,
e-mail: torgyn-zh@mail.ru