

*Л.И. Прищепа, С.Л. Василенко, Н.Н. Фурик
Институт мясо-молочной промышленности, Минск, Республика Беларусь*

ИССЛЕДОВАНИЕ СВОЙСТВ МОЛОЧНОКИСЛЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ И ФЕРМЕНТОВ ДЛЯ СОЗДАНИЯ БИОКОНСЕРВАНТА НА ИХ ОСНОВЕ

(Поступила в редакцию 02.04.2015 г.)

50 коллекционных штаммов лактобацилл и лактококков исследованы на устойчивость к технически-вредной микрофлоре, скорости образования молочной кислоты, для лактобацилл оценена способность ферментировать низкоатомные спирты и углеводы. Проведен скрининг штаммов на совместимость с ферментными препаратами ЦелоЛюкс-Ф, ГлюкоЛюкс-Ф, Кормомикс при культивировании на искусственных питательных средах. Установлено отсутствие негативного влияния ферментных препаратов на рост и развитие молочнокислых микроорганизмов. Оценена осмотолерантность культур в модельных опытах по силосованию растительной массы. По результатам проведенных исследований отобраны штаммы лактобацилл и лактококков, представляющие интерес для дальнейшей работы по созданию микробно-ферментного препарата.

Введение. Получение высококачественного силоса с применением различных консервантов – один из перспективных приемов в цепи технологического процесса заготовки кормов. В последние годы с учетом высокой стоимости химических консервантов, снижении качества продуктов силосования, предпочтение отдается безвредным для человека и окружающей среды биологическим консервантам, обеспечивающим высокую концентрацию молочнокислых бактерий в силосуемой массе и, в зависимости от вида растительного сырья, подбираются составы и комплексные препараты, направленно регулирующие процесс силосования.

В настоящее время в силосовании кормов широко используются бактериальные препараты, состоящие как из одной культуры молочнокислых бактерий, так и ассоциации нескольких видов [1–4]. В состав универсальной силосной закваски Биосиб (Россия) входят молочнокислые и пропионовокислые бактерии, обладающие повышенной осмофильностью, что позволяет им развиваться в массе из

проявленных трав и культур с низкой влажностью [5]. Препарат Биомакс GP (Chr. Hansen, Дания) содержит молочнокислые бактерии *Pediococcus pentosaceus* и *Lactobacillus pentosus*[6]. Биоконсервант на основе консорциума молочнокислых бактерий *Lactobacillus plantarum*, *Enterococcus faecium*, *Pediococcus acidilactici* применяют для ферментации ячменяикукурузы [7].

Ряд исследователей отмечают высокое качество силоса, получаемое при использовании для силосования бактерий *Lactobacillus buchneri* в комбинации с *Lactobacillus plantarum*, *Pediococcus acidilactici*, *Propionibacterium acidipropionic*, из кукурузы [8], райграса пастбищного [9], сорго и подсолнечника [10].

Молочнокислые бактерии в процессе своей жизнедеятельности используют сахара, содержащиеся в растительной массе, при этом не всегда обеспечивая хорошую ферментацию силоса из-за истощения доступных сахаров прежде, чем накапливается достаточное количество молочной кислоты. Оптимизация силосования может быть достигнута за счёт использования комплексных препаратов, содержащих комбинации молочнокислых микроорганизмов и целлюлозолитических ферментов. Учитывая свойства ферментов расщеплять растительные полисахариды (целлюлозы, гемицеллюлозы) до простых сахаров, их применение особенно актуально при силосовании культур с низким содержанием сахаров. Субстратом для молочнокислого брожения в этом случае являются водорастворимые углеводы, которые трансформируются под действием молочнокислых микроорганизмов в смесь молочной и уксусной кислот. Оптимально вводить в состав биоконсерванта целлюлозолитические ферменты, которые производят быстрый гидролиз полисахаридов и несколько видов осмоотолерантных, высокоэффективных молочнокислых бактерий.

В настоящее время на отечественном рынке представлен ряд комплексных препаратов на основе ферментов в сочетании с бактериальными культурами или заквасками. Микробно-ферментные препараты компании «Лаллеманд» (АксФаст Голд, АксКул, Холл Кроп Голд), которые разрешены для использования в Республике Беларусь под торговой маркой «Биотал», используются для силосования бобовых, злаковых трав и кукурузы [11]. Препарат Лактофлор-Фермент содержит *Streptococcus lactis* с добавлением ферментов амилазы, глюкоамилазы, целлюлазы, ксиланазы, что ускоряет процесс силосования бобовых культур [12]. В составе комплексного препарата используется фермент Феркон и бактериальная закваска Биосиб [13–15]. Консерванты линии

Фидтек™ фирмы «ДеЛаваль» содержат целлюлозолитический фермент и молочнокислые микроорганизмы *Lactobacillus buchneri*, *Pediococcus acidilactici*, *Lactobacillus plantarum* и рекламируются для силосования злаковых и бобовых культур, их смесей [16,17]. Жидкий биоконсервант «Лактофлор-фермент» содержит 1×10^7 – 1×10^{10} КОЕ *Lactobacillus plantarum* целлюлозолитические ферменты [18].

На сегодняшний день зарубежный и отечественный опыт свидетельствует о перспективности применения молочнокислых микроорганизмов и целлюлозолитических ферментов в качестве основы консервантов для силосования растительной массы. В Республике Беларусь ассортимент разрешенных к применению биоконсервантов ограничен 16 препаратами отечественного и зарубежного производства. РУП «Институт мясо-молочной промышленности» совместно с РУП «НПЦ НАН Беларуси по животноводству» разработали консерванты линии «Биоплант» для силосования различного растительного сырья, содержащие специально подобранные консорциумы штаммов молочнокислых микроорганизмов с добавлением или без пропионовокислых микроорганизмов. В то же время сухой биоконсервант отечественного производства, содержащий молочнокислые микроорганизмы и целлюлозолитические ферменты, отсутствует. Таким образом, проведение исследований для получения комплексного микробно-ферментного биоконсерванта для силосования растительного сырья является актуальной задачей.

Цель исследований – определение микробиологического состава и подбор ферментных препаратов в состав нового комплексного микробно-ферментного биоконсерванта.

Материалы и методы исследований.

В работе использовали микроорганизмы из Централизованной отраслевой коллекции промышленных штаммов молочнокислых микроорганизмов: 4 штамма *Lactobacillus plantarum* (1180 ML-OF, 1157 ML-AF, 2640 ML-O, 2645 ML-O), 6 штаммов *Lactobacillus rhamnosus* (2593 ML-AF 1190 ML-AF 2637 TL-O 2641 TL-O 2642 TL-O 2643 TL-O), и *Lactococcus* ssp. (40 штаммов); 3 штамма *E. coli* (J5-3/R446b, *E. coli* 1019, *E. coli* J5-3/R16) и 1 штамм *Clostridium tyrobutyricum*.

Среды и реактивы.

Среду MRS для культивирования лактобацилл и лактококков готовили согласно рекомендациям, приведенным в [19].

Среды Ласа, МПБ готовили по описанию, приведенному на упаковке.

Тесты для определения ферментации сахаров. Использовали стрип-тесты API 50 CH (BIOMERIEUX, Франция) в сочетании со средой API 50 CHL Medium (BIOMERIEUX, Франция).

Основные методы исследования.

Измерение pH проводили по ГОСТ 26781.

Культивирование бактерий. Бактерии культивировали в полужидких (0,15% агар) или на агаризованных (1,5% агар) средах при 30 ± 1 °C (лактококки, *Clostridium tyrobutyricum*), 32 ± 2 °C (лактобациллы) и 37 ± 1 °C (*E. coli*).

Определение антагонистической активности. Определение антагонистической активности к условно-патогенным микроорганизмам проводили методом отсроченного антагонизма. На поверхность агаризованной MRS-среды в чашке Петри штрихом высевали исследуемый штамм, выращенный в анаэробных условиях в течении 24 ч при оптимальной температуре, после чего перпендикулярным штрихом наносили 16 ± 2 часовые тест-культуры условно-патогенных микроорганизмов (*Escherichia coli* или *Clostridium tyrobutyricum*) и инкубировали в термостате в течении 24 ч (*Escherichia coli*) или 72 ч (*Clostridium tyrobutyricum*). Об уровне антагонистической активности исследуемых штаммов судили по зонам задержки роста тест-культур.

Определение кислотообразующей активности бактерий. Бактериальные культуры выращивали в течении 16 ± 2 ч в среде MRS, после чего 1% бактериальной суспензии вносили в 100 мл среды, инкубировали в термостате при оптимальной температуре в течении 12 ч, Через каждый час отбирали пробы по 5 мл и регистрировали изменение pH.

Определение влияние ферментных препаратов на рост и развитие бактерий. Бактериальные культуры выращивали в течение 16 ± 2 ч в среде MRS, после чего 0,1 мл бактериальной суспензии вносили в 100 мл среды, инкубировали в термостате при оптимальной температуре в течении 24 ч, после чего регистрировали изменение оптической плотности и pH.

Определение оптической плотности суспензии бактерий. Оптическую плотность определяли в пластиковых кюветах толщиной 1 см при длине волны 540 нм на спектрофотометре SOLAR.

Определение осмоплерантности. Измельченную зеленую массу заливали 10%-ным (для имитации проявлявания массы до 45% сухого

вещества) раствором хлористого калия с добавкой 1–2% сахара. Устойчивость штаммов молочнокислых микроорганизмов оценивали по разности рН искусственной среды, приготовленной без внесения и с внесением бактериальной суспензии спустя 24, 72 часа после ее инкубирования при температуре 30 ± 1 °С [20].

Определение способности ферментировать сахара с использованием стрип-систем. Для определения биохимического профиля микроорганизма 0,1 мл 16-часовой культуры вносили в пробирки с 10 мл жидкой MRS-среды, инкубировали в термостате в анаэробных условиях при 37 °С в течении 18 ± 2 ч, после чего клетки осаждали центрифугированием при 3 тыс. об./мин, ресуспендировали в 1 мл стерильного физиологического раствора. После определения оптической плотности полученной суспензии вносили определенное количество в СНЛ-среду таким образом, чтобы оптическая плотность полученного инокулята составила $0,25 \pm 0,05$ (2 единицы МакФарланда). В каждую пробирку вносили по 110 мкл полученной суспензии, после чего лунку, оставшуюся незаполненной, заливали стерильным минеральным маслом. Стрипы инкубировали в термостате при оптимальной температуре в течение 48 ч, учет результатов проводили через 24 и 48 часов инкубации. Интерпретацию результатов проводили с использованием программного обеспечения АТВ-plus.

Результаты и их обсуждение. Для повышения эффективности силосования оптимально вводить в состав биоконсерванта несколько видов осмоотолерантных, высокоэффективных молочнокислых бактерий и целлюлозолитические ферменты, которые действуют избирательно, расщепляя сложные сахара травяных волокон на глюкозу, сахарозу, что, в свою очередь, повышает как эффективность молочнокислых микроорганизмов, так и питательную и энергетическую ценность корма.

Для включения штаммов в состав биоконсерванта одним из условий является подавление развития эпифитной, а также гнилостной, технически-вредной или патогенной микрофлоры, которая обычно содержится на вегетативных частях силосуемых растений. Штаммы, используемые в биоконсерванте, должны обладать высоким уровнем антагонистической активности по отношению к данной микрофлоре.

Для использования штаммов в составе консорциума для нового консерванта проведена оценка ингибирования исследуемыми культурами возбудителя маслянокислого брожения (*Clostridiumtyrobutyricum*) и БГКП (*Escherichiacoli*).

Установлена высокая степень антагонизма штаммов *L. plantarum* и *L. rhamnosus* к бактериям *E. coli* и *C. tyrobutyricum*: размер зоны задержки роста составил 24–31 мм и 8–20 мм, соответственно (рис. 1).

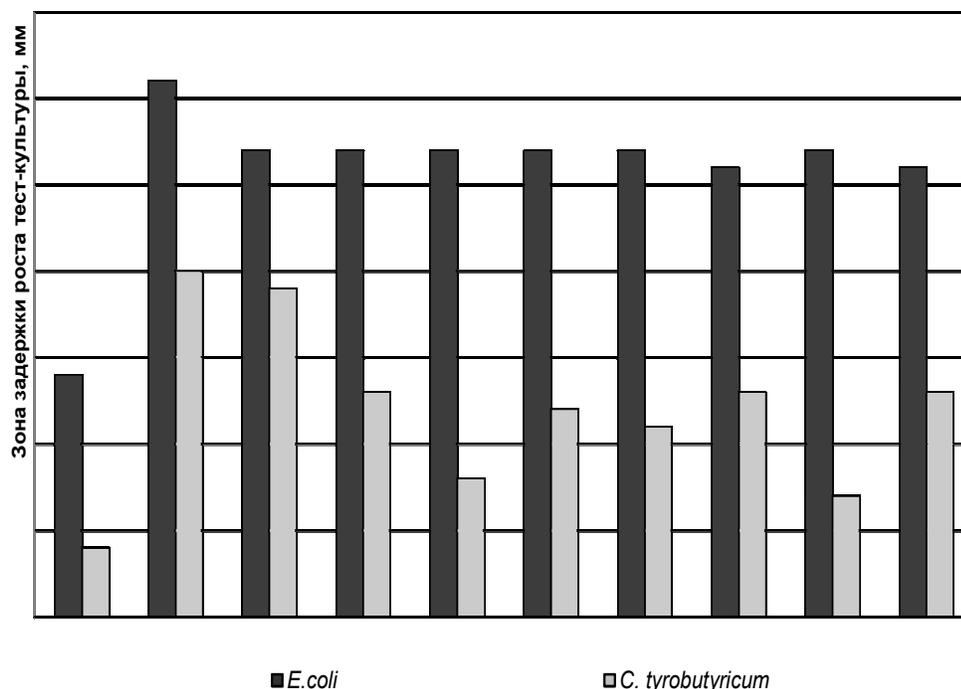


Рисунок 1 – Антагонистическая активность лактобацилл в отношении технически-вредной микрофлоры

Лактококки обладали значительно менее выраженным антагонизмом по отношению к *E. coli* – зона задержки роста составила до 5 мм, и не оказывали антагонистической активности по отношению к *C. tyrobutyricum*.

Таким образом, изучена антагонистическая активность штаммов молочнокислых микроорганизмов из Централизованной отраслевой коллекции промышленных штаммов молочнокислых бактерий РУП «Институт мясо-молочной промышленности» (40 штаммов *Lactococcus* ssp, 6 штаммов *Lb. rhamnosus*, 4 штамма *Lb. plantarum*) к технически-вредной микрофлоре, по результатам которых отобраны штаммы лактобацилл с высокой степенью ингибирования возбудителя маслянокислого брожения (*Clostridium tyrobutyricum*) и *Escherichia coli*, а также штаммы лактококков, обладающие антагонистической активностью к исследованным культурам кишечной палочки.

На следующем этапе работы изучена кислотообразующая активность штаммов. Установлено, что лактококки обладали более высокой скоростью образования молочной кислоты: при внесении 1%

посевного материала снижение активной кислотности среды с 6,8 ед. рН до 5,0 ед. рН происходило в течение 4–4,5 ч. При изучении штаммов лактобацилл снижение активной кислотности среды с 6,8 ед. рН до 5,0 ед. рН регистрировали в течение 12–14 ч.

Для штаммов лактобацилл определена способность ферментировать низкоатомные спирты и различные углеводы (с использованием стрип-систем API 50 CHL). Установлено, что из пентозосахаров все исследуемые штаммы ферментировали рибозу, а штаммы *Lb. plantarum* и *L*-арабинозу. Из исследованных низкоатомных спиртов, гексозосахаров, ди- и трисахаридов все штаммы продуцировали кислоту из *D*-галактозы, *D*-глюкозы, *D*-фруктозы, *D*-маннозы, салицина, *D*-целлобиозы, *D*-мальтозы, *D*-лактозы, *D*-трегалозы, гентиобиозы.

Для использования в составе комплексного биоконсерванта изучены ферментные препараты, способные пополнять недостаток водорастворимых сахаров для жизнедеятельности бактерий:

– **ЦеллоЛюкс-Ф** (Сиббиофарм, Россия) содержит комплекс ферментов, способных гидролизовать растительные полисахариды – целлюлазы, глюканы, ксиланы, гемицеллюлазы. В процессе силосования сложные полисахариды соломы и кукурузы разрушаются до глюкозы, фруктозы, маннозы, часть которых молочнокислыми бактериями переводится в органические кислоты, в результате чего в готовом корме повышается содержание легкосбраживаемых сахаров, молочной кислоты и, как следствие, общая питательность силоса.

– **ГлюкоЛюкс-Ф** (Сиббиофарм, Россия) содержит комплекс ферментов: ксиланы, целлюлазы, β -глюканы, глюкоамилазы, что позволяет гидролизовать некрахмалистые полисахариды до моно- и дисахаридов. Основной фермент – глюкоамилаза расщепляет α -1,4 и α -1,6 глюкозидные связи с образованием глюкозы.

– **Кормомикс** (Белбиотехпро, Беларусь) содержит в своем составе ряд гидролитических ферментов: α -амилазу, глюкоамилазу, целлюлазу, ксиланазу, протеазу, которые способны обеспечивать частичный гидролиз некрахмалистых полисахаридов и белков, повышать усвояемость кормов, активизировать энзимную активность рубцового содержимого КРС, что в конечном итоге приводит к снижению расхода кормов на единицу продукции до 12%.

Селекция штаммов по критерию совместимости с полиферментными препаратами ЦеллоЛюкс-Ф, ГлюкоЛюкс-Ф, Кормомикс, содержащими в своем составе в разных концентрациях и соотношениях целлюлазы, ксиланы, глюканы, глюкоамилазу,

проведена на основе результатов скрининга при их совместном культивировании на искусственных питательных средах. При проведении работы оценивали изменение оптической плотности и активной кислотности среды, в которую добавлена бактериальная культура (не более 1×10^4 КОЕ/мл) и исследуемый полиферментный препарат (в концентрации 0,1–0,001% от объема среды) за 24 ч (табл. 1). Выбор данных концентраций фермента обусловлен тем, что хорошие результаты при силосовании люцерны получены при использовании полиферментного препарата целловиридин, содержащего те же ферменты, но в других соотношениях, как и входящие в выбранные нами препараты [21]. Целловиридин вносили в количестве 0,1% в силосуемое сырье, причем суммарная активность всех ферментов, входящих в его состав, составляла 50 е.а. в 1 г препарата. При пересчете ферментативной активности исследуемых нами препаратов для внесения в 1 т сырья установлено, что на 1 т силосуемой массы необходимо вносить следующие количества ферментных препаратов – 6,9 г/т фермента ЦеллоЛюкс-Ф (0,0007% от объема силосуемого материала), 38,4 г/т фермента ГлюкоЛюкс-Ф (0,004% от объема силосуемого материала), 9,1 г/т фермента Кормомикс (0,001% от объема силосуемого материала).

Как видно из данных, приведенных в таблице 1, в результате исследований не установлено отрицательного влияния ферментов на рост и развитие лактобацилл: при всех исследованных концентрациях фермента в среде показатель оптической плотности возрастал с $0,006 \pm 0,001$ до 1,9–2,7 ед. ОП (в зависимости от используемого штамма), активная кислотность среды культивирования уменьшилась с $6,80 \pm 0,03$ до 4,01–4,25 ед. рН как без добавления ферментного препарата, так и с добавлением ферментного препарата во всех исследованных концентрациях.

Таким образом, добавление ферментных препаратов (0,1% или 0,01% или 0,001%) в питательную среду не оказывает отрицательного влияния на рост и развитие лактобацилл, о чем свидетельствует увеличение значения оптической плотности и снижение активной кислотности среды незначительно отличающиеся в опытных образцах от аналогичного показателя, характеризующего рост контрольного образца – бактериального штамма без добавления ферментного препарата.

Таблица 1 – Влияние ферментов ЦеллоЛюкс-F, ГлюкоЛюкс-F, Кормомикс на развитие молочнокислых микроорганизмов в среде при совместном культивировании

Фермент	Концентрация фермента, %	Без микроорганизмов		<i>L. rhamnosus</i> 2593 ML-AF		<i>L. rhamnosus</i> 2643 TL-O		<i>L. plantarum</i> 1157 ML-AF		<i>L. plantarum</i> 2645 ML-O		Лактококки, консорциум №70		Лактококки, консорциум №71	
		Δ ОП за 24 ч	Δ pH за 24 ч	Δ ОП за 24 ч	Δ pH за 24 ч	Δ ОП за 24 ч	Δ pH за 24 ч	Δ ОП за 24 ч	Δ pH за 24 ч	Δ ОП за 24 ч	Δ pH за 24 ч	Δ ОП за 24 ч	Δ pH за 24 ч	Δ ОП за 24 ч	Δ pH за 24 ч
Контроль (среда без добавления фермента)	0	0	0,04	2,05	2,54	2,10	2,44	2,22	2,55	1,98	2,28	1,31	1,82	1,24	1,84
ЦеллоЛюкс-F	0,1	0,03	0,06	2,01	2,5	2,20	2,32	2,23	2,49	2,09	2,30	1,29	1,88	1,31	1,86
ЦеллоЛюкс-F	0,01	0,02	0,04	1,96	2,6	2,02	2,36	2,28	2,59	2,02	2,27	1,31	1,84	1,28	1,82
ЦеллоЛюкс-F	0,001	0,02	0,06	2,03	2,67	2,08	2,69	2,25	2,57	1,99	2,25	1,29	1,82	1,25	1,89
ГлюкоЛюкс-F	0,1	0,06	0,02	2,09	2,81	2,10	2,78	2,23	2,46	1,92	2,28	1,21	1,80	1,34	1,81
ГлюкоЛюкс-F	0,01	0,03	0,03	2,01	2,63	2,06	2,62	2,24	2,59	2,08	2,25	1,25	1,80	1,25	1,80
ГлюкоЛюкс-F	0,001	0,02	0,02	2,02	2,60	2,08	2,51	2,25	2,57	1,99	2,25	1,25	1,81	1,25	1,82
Кормомикс	0,1	0,04	0,05	2,00	2,31	2,01	1,91	2,12	2,46	2,05	2,31	1,22	1,82	1,21	1,87
Кормомикс	0,01	0,03	0,04	2,13	2,42	2,08	2,4	2,23	2,64	2,02	2,30	1,24	1,82	1,25	1,81
Кормомикс	0,001	0,03	0,09	2,21	2,53	2,17	2,4	2,22	2,60	1,99	2,25	1,29	1,82	1,31	1,82

Аналогичные данные получены по результатам оценки влияния ферментов на развитие лактококков: показатель оптической плотности возрастал с $0,006 \pm 0,001$ до $1,25-1,37$ ед. ОП, значение рН через 24 часа культивирования колебалось в пределах $4,4-4,7$.

Результаты исследований по совместимости микроорганизмов и ферментов при совместном культивировании на питательных средах послужили основанием для дальнейшего изучения их совместного влияния на растительную массу.

Еще одним свойством штамма, позволяющим его использовать в составе биоконсерванта, является его высокая осмотолерантность, то есть способность активно размножаться при повышенной водоудерживающей силе растительных клеток. Осмотолерантность исследуемых штаммов лактобацилл и лактококков определяли по методу, позволяющему спрогнозировать эффективность биоконсерванта, не прибегая к прямым опытам по силосованию. Используемый метод позволяет оценить адаптацию штаммов молочнокислых микроорганизмов к условиям брожения на провяленной травяной массе (имитация до $30-45\%$ содержания сухого вещества). Смесь для силосования содержала испытуемую траву и искусственной среду (10% -ный раствор хлористого калия с добавлением $1-2\%$ сахара в расчете на зеленую массу), при этом соотношение зеленой массы к раствору составило $3:10$. Полиферментные препараты использовали из расчета их внесения 10 г или 100 г на тонну силосуемой массы с добавлением молочнокислых микроорганизмов из расчета 1×10^5 КОЕ на 1 г растительного сырья. Эффективность комбинаций штамм-фермент оценили по разности активной кислотности силосуемой зеленой массы, приготовленной без (контроль) и с внесением отобранных ранее микробно-ферментных комбинаций спустя 72 часа ее выдерживания при температуре 30 °С.

Установлено, что разница активной кислотности между исследуемыми вариантами и контролем спустя 72 часа силосования в модельных экспериментах колебалась от $0,32$ до $0,79$ ед. рН (для опытных образцов, содержащих только ферментные препараты), от $0,57$ до $1,12$ ед. рН (для опытных образцов, содержащих только микроорганизмы) и от $0,85$ до $1,58$ ед. рН (для опытных образцов, содержащих микроорганизмы и ферментные препараты). Считается, что если разница активной кислотности превышает $0,5$ ед. рН, то штамм является осмотолерантным [20]. Добавление ферментных препаратов в модельную среду приводило к большей разнице между исследуемыми

вариантами и контролем, что свидетельствует о высвобождении дополнительного количества легкоусвояемых сахаров из силосуемой массы, и как следствие более быстрому снижению активной кислотности среды при силосовании.

Таким образом, все штаммы, используемые в модельных опытах по определению их осмотолерантности, могут расти и размножаться при высоком осмотическом давлении окружающей среды. Добавление ферментных препаратов в исследуемых концентрациях способствует более быстрому подкислению среды и достижению необходимой кислотности силосуемой растительной массы.

Заключение. Изучена антагонистическая активность штаммов молочнокислых микроорганизмов Централизованной отраслевой коллекции промышленных штаммов молочнокислых бактерий РУП «Институт мясо-молочной промышленности» (40 штаммов *Lactococcus* spp, 6 штаммов *Lb. rhamnosus*, 4 штамма *Lb. plantarum*) к технически-вредной микрофлоре, по результатам которых отобраны штаммы лактобацилл с высокой степенью ингибирования возбудителя маслянокислого брожения (*Clostridium tyrobutyricum*) и *Escherichia coli*, а также штаммы лактококков, обладающие антагонистической активностью к исследованным культурам кишечной палочки.

Установлено, что лактококки обладали более высокой скоростью образования молочной кислоты: при внесении 1% посевного материала снижение активной кислотности среды с 6,8 ед. рН до 5,0 ед. рН происходило в течение 4–4,5 ч. При изучении штаммов лактобацилл снижение активной кислотности среды с 6,8 ед. рН до 5,0 ед. рН регистрировали в течение 12–14 ч.

Определено, что из пентозосахаров исследуемые штаммы ферментировали рибозу, а штаммы *Lb. plantarum* – еще и L-арабинозу. Из исследованных низкоатомных спиртов, гексозосахаров, ди- и трисахаридов все штаммы продуцировали кислоту из D-галактозы, D-глюкозы, D-фруктозы, D-маннозы, салицина, D-целлобиозы, D-мальтозы, D-лактозы, D-трегалозы, гентиобиозы.

Селекция штаммов по критерию совместимости с полиферментными препаратами ЦеллоЛюкс-Ф, ГлюкоЛюкс-Ф, Кормомикс, содержащими в своем составе в разных концентрациях и соотношениях целлюлазы, ксиланазы, глюканазы, глюкоамилазу, проведена на основе результатов скрининга при их совместном культивировании на искусственных питательных средах. Установлено, что добавление ферментных препаратов в концентрации 0,1% или 0,01%

или 0,001% в питательную среду не оказывает отрицательного влияния на рост и развитие микроорганизмов, о чем свидетельствует увеличение значения оптической плотности и снижение активной кислотности среды незначительно отличающиеся в опытных образцах от аналогичного показателя, характеризующего рост контрольного образца – бактериального штамма без добавления ферментного препарата.

Установлено, что все штаммы, используемые в модельных опытах по определению их осмотолерантности, могут расти и размножаться при высоком осмотическом давлении окружающей среды. Добавление ферментных препаратов в исследуемых концентрациях способствует более быстрому подкислению среды и достижению оптимальной кислотности силосуемой растительной массы.

Литература

1. Способ силосования козлятника восточного: пат. № 2437567РФ, МПК А23К 3/00 / Н.В. Фомичева, Е.А. Васильева, Н.Г. Ковалев, Г.Ю. Рабинович, АГ. Кобзин; заявитель: ГНУ Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственного использования мелиорированных земель Россельхозакадемии. – заявл.25.06.2010, опубл. 27.12.2011.

2. Способ силосования трав: пат. № 2271123РФ, МПК А23К 3/00 / Ю.А. Победнов, А.А. Мамаев; заявитель: Всероссийский научно-исследовательский институт кормов им. В.Р. Вильямса. – № 2003133115/13, заявл. 13.11.2003, опубл. 10.03.2006.

3. Способ силосования кормов с использованием бактериального препарата: пат. № 2241346РФ, МПК А23К 3/00 / К.К. Сатубалдин, Л.А. Салангинас; заявитель: Закрытое акционерное общество Научно-производственная система «Элита-комплекс». – № 2002129690/13, заявл. 04.11.2002, опубл. 10.12.2004.

4. Шпаков, А.С. Заготовка и использование силоса из провяленных трав с препаратом Биотроф (Рекомендации) / А.С. Шпаков, А.И. Фицев, Ю.А. Победнов и др.– М.: ВНИИ кормов им. Вильямса, 2005. –с.13.

5. Дистанционное обучение [Электронный ресурс] / УО «Гродненский государственный аграрный университет».– Гродно, 2014. – Режим доступа: <http://www.ggau.by/modle>.– Дата доступа: 11.03.2015 г.

6. Комовые добавки [Электронныйресурс] /ООО «Биоком».– Режимдоступа: <http://www.biocom.by/web/ru>– Датадоступа: 11.03.2015 г.

7. Shil, J. Efficacy of three different silage inoculants on the fermentation quality and aerobic stability of ryegrass ensiled with three different prewilting degrees / JianzhongShil, QiyuDiao, Li Fadi // *Žemdirbystė Agriculture*. – Vol. 98, № 4. – 2011. – P. 367–374.

8. Comparison of the fermentation characteristics, aerobic stability and nutritive value of barley and corn silages ensiled with or without a mixed bacterial inoculant / W. Addah [et. al.] // *African Journal of Agricultural Research*. – Vol. 7(2). – 2012. – P. 164–169.

9. Shil, J. Effects of different bacterial inoculants on the fermentation and aerobic stability of whole-plant corn silage / JianzhongShil, QiyuDiao, Li Fadi. – College of Animal Science and Technology, Gansu Agricultural University. – Lanzhou 730070.

10. Driehuis, F. Fermentation characteristics and aerobic stability of grass silage inoculated with *Lactobacillus buchneri*, with or without homofermentative lactic acid bacteria / F. Driehuis, S. J. W. H. Oude Elferink, P. G. Van Wijkelaar // Institute for Animal Science and Health, Department ID TNO Animal Nutrition, PO Box 65, 8200 AB Lelystad.

11. Компания Lallemand Animal Nutrition [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://www.lallemand.ru/>. – Дата доступа: 11.03.2015 г.

12. Лактофлор-Фермент (производство Беларусь) [Электронный ресурс] / ООО «Перспектива-Агро». – Всеволожск, 2011. – Режим доступа: <http://www.perspectivagro.ru/laktofor-ferment.html>. – Дата доступа: 11.03.2015 г.

13. Косолапов, В.М. Эффективность новых технологий приготовления кормов из трав / В.М. Косолапов, В.А. Бондарев, В.П. Клименко // *Достижения науки и техники АПК*. – 2009. – № 7. – С. 40–41.

14. Клименко, В.П. Эффективность смеси Феркона с Биосибом при силосовании и сенажировании козлятника восточного / В.П. Клименко // *Зоотехния*. – 2010. – № 2. – С. 20.

15. Косолапов, В.М. Применение биологических препаратов для приготовления объемистых кормов из высокопротеиновых бобовых трав / В.М. Косолапов, В.А. Бондарев, В.П. Клименко // *Аграрная наука* – 2009. – № 6. – С. 17.

16. Компания «ДеЛаваль» [Электронный ресурс]. – Режим доступа: www.delaval.ru/. – Дата доступа: 11.03.2015 г.

17. Морозов, П. Фидтек – технология здорового и питательного силоса / П. Морозов // *Белорусское сельское хозяйство*. – 2014. – № 8 (148). – С. 44–46.

18. Рыжик, Я. Биоконсервант «Лактофлор-фермент»: преимущества применения / Я. Рыжик // Белорусское сельское хозяйство.–2012. – № 5. – С. 58–59.

19. DeMan, J.C. A medium for the cultivation of lactobacilli / J.C. DeMan, M. Rogosa, M.E. Sharpe // J. Appl. Bacteriol. – 1960. – Vol. 23. – P. 130–135.

20. Способ определения эффективности препаратов молочнокислых бактерий при силосовании провяленных трав: пат. № 2173060РФ, МПК А23К3/02 / Ю.А. Победнов, Ф. Вайсбах, Г. Палов, О.А. Гетьман; заявитель: Всероссийский научно-исследовательский институт кормов им. В.Р. Вильямса. – № 98121765/13, заявл. 01.12.1998, опубл. 10.09.2001.

21. Способ силосования люцерны: пат. № 1752320 РФ, МПК А23К3 / А.А. Симонов, М.В. Фисунов, Б.Б. Ицыгин, Н.М. Павлова, В.В. Козлова, Ю.М. Некрасов, В.А. Бондарев, Г.А. Ахмедов, Л.В. Рыженок, П.И. Тищенко, Э.В. Удалова. – опубл. 25.07.1990.

L. Prischepa, S. Vasylenko, N. Furik

INVESTIGATION OF PROPERTIES OF LACTIC ACID BACTERIA AND ENZYMES FOR DEVELOPMENT OF BIOPRESERVATIVE ON ITS BASIS

Summary

50 collection strains of *Lactobacillus* and *Lactococcus* were studied on resistance to technically-harmful microorganisms, on the rate of lactic acid production, the ability of lactobacilli to ferment some alcohols and carbohydrates was assessed. Strains were screened for compatibility with such enzymes as CeloLyuks-F, GlyukoLyuks-F, Kormomiks in condition of cultivation on artificial nutritional media. The absence of negative influence of enzymes on growth and development of lactic acid microorganisms was established. Osmotic resistance of cultures was estimated in model experiments for plants silaging. Based on results of the studies *Lactobacillus* and *Lactococcus* strains were selected for further development of microbial and enzyme biopreserving agent.