

МРНТИ: 34.57.21

Н.Н. ГАВРИЛОВА¹, А.К. САДАНОВ¹, И.А. РАТНИКОВА^{1*}, Е.Ж. ШОРАБАЕВ²,
С.Э. ОРАЗЫМБЕТ¹, Г.К. ТАУБЕКОВА², Р.Ж., КАПТАГАЙ¹, Л.А. КОШЕЛЕВА¹,
У.Ж. КЕРЕМБЕКОВА¹, Ж.Т. МУСАБЕКОВ¹, С.Б. ДЖАЙЛАУОВА¹

¹ТОО «Научно-производственный центр микробиологии и вирусологии»,
Алматы, Казахстан

²ТОО «Промышленная микробиология», Алматы, Казахстан

*e-mail: iratnikova@list.ru

СОЗДАНИЕ БИОПРЕПАРАТА «КАЗБИОСИЛ» В ЖИДКОМ И СУХОМ ВИДЕ

doi: 10.53729/MV-AS.2022.02.05

Аннотация

В результате проведенных исследований разработаны оптимальные питательные среды для культивирования молочнокислых и пропионовокислых бактерий при производстве заквасок «Казбиосил».

Установлено, что срок годности жидкой закваски при хранении без протектора при температуре 6-8°C составляет 3 месяца со дня изготовления, а с сахарозой или сахарозой в сочетании с желатином в качестве протекторов – 4 месяца.

При производстве сухой закваски «Казбиосил» сублимационное высушивание концентрированной с помощью центрифугирования биомассы бактерий проводят с использованием в качестве протекторов 7% сахарозы, 1,5% желатина и 7% сухого обезжиренного молока. В качестве наполнителя при стандартизации сухого концентрата бактерий до необходимого титра рекомендовано использовать сухое обезжиренное молоко или картофельный крахмал. Установлено, что при хранении в холодильнике срок годности сухих препаратов «Казбиосил», приготовленных по разработанной технологии, составляет 12 месяцев со дня изготовления.

Показано, что с помощью жидкой и сухой заквасок «Казбиосил» можно получать качественный корм из различного вида растительного сырья.

Ключевые слова: бактерий, молочнокислые, пропионовокислые, протекторы, закваска, культивирование, концентрат.

Корма играют решающую роль не только как основной источник продуктивности животных, но и в значительной степени характеризуют эффективность производства отрасли, так как более 50% затрат ложится именно на кормление.

Среди мероприятий по укреплению кормовой базы животноводства одно из ведущих мест принадлежит производству высококачественных силосованных кормов, которые должны занимать основной удельный вес в зимних рационах скота.

Силосованный корм является универсальным, так как обеспечивает животный организм белками, углеводами и необходимыми витаминами. Снижение потерь питательных веществ и повышение качества заготавливаемых травянистых кормов является реальным резервом интенсификации кормопроизводства и приобретает на современном этапе стратегическое направление.

В последнее время широкое распространение получила технология силосования кормов с применением биологических консервантов. Содержащиеся в них живые молочнокислые микроорганизмы вызывают быстрое понижение рН за счет образования молочной кислоты. В сжатые сроки происходит консервация кормов с сохранением сухого вещества, протеина, витаминов и других питательных веществ.

В настоящее время для биологического консервирования растительных кормов предлагаются различные препараты силосных заквасок. Известна закваска для

силосования и сенажирования растительных кормов «Биотроф 2+» (Россия) на основе штаммов молочнокислых бактерий *Lactobacillus plantarum* и *Enterococcus faecium* [1].

Препарат «Лактобифадол» [2], содержащий сочетание бактериальной массы в виде *Lactobacillus acidophilus* и *Streptococcus faecium* предназначен для силосования зеленой массы кормовых культур. Применение биопрепарата обеспечивает улучшение качества получаемого корма за счет повышения сохранности протеина, удельного веса молочной кислоты и в целом питательности корма, однако он не способен предохранять силос из высокосахаристых растений от переокисления, что может вызывать ацидозы у животных.

Известен также ряд других биоконсервантов: Литосил (Украина), Лаксил (Беларусь), закваска универсальная (Нижний Новгород, Россия), Микробелсил (Чехия), Бонсилаге и Bio-sil (Германия), Биомакс 5 и Биомакс GP (Дания) и др., содержащие смешанные культуры молочнокислых бактерий. При этом одни и те же закваски используются для консервирования как легко-, так и трудносилосуемых растений. Силосование грубых кормов в этом случае возможно лишь после предварительной обработки, а также в смеси с легкосилосующимися растениями или с различными добавками: зерноотходами, мелассой, мукой, сывороткой и т.д. [3].

ТОО «Промышленная микробиология» предложена технология заготовки силоса с использованием бактериальной закваски «Казбиосил», специализированной для определенного вида растительного сырья: трудносилосуемых растений (клевера, эспарцета, люцерны, злаковых травосмесей, тростника, естественного разнотравья) соломы и других грубостебельчатых остатков растениеводства, высокосахаристых легко силосуемых растений (кукурузы, подсолнечника, сорго) в оптимальных и высоко влажных (75-85%) фазах роста.

Биопрепарат «Казбиосил» [4] состоит из высокоактивных штаммов молочнокислых и пропионовокислых бактерий. Входящий в состав специализированной бактериальной закваски амилолитический молочнокислый стрептококк *Streptococcus lactis diastaticus* (АМС) обладает комплексом гидролитических ферментов, способных вовлекать в молочнокислое брожение не только простые сахара, но и сложные полисахариды, например, декстрин и крахмал. Поэтому он применяется для консервирования трудносилосуемых кормов с диапазоном влажности от 60 до 80%. Пентозосбраживающие молочнокислые бактерии *Lactobacillus pentosaceticum* (ПМБ) являются активными кислотообразователями при использовании пентозных сахаров непищевого сырья, поэтому рекомендуются для силосования соломы. При увлажнении соломы 1%-ным солевым раствором до влажности 65-70% бактерии сбраживают ксилозу и арабинозу с образованием органических кислот, подкисляя корм до pH 4,4-5,2. Пропионовокислые бактерии *Propionibacterium shermanii* (ПКБ) образуют пропионовую и уксусную кислоты при сбраживании сахаров и органических кислот, являются продуцентом витамина В₁₂. Предупреждают переокисление и плесневение корма, обогащают его витамином В₁₂. Используются совместно с АМС при силосовании высокосахаристых растений.

Создание специализированных биоконсервантов для различных видов растительного сырья позволяет расширить круг растений и отходов полеводства, вовлекаемых в кормопроизводство для приготовления качественного силоса или сенажа.

Препарат выпускается в виде жидкой культуры и однородного порошка от белого до кремового цвета [5, 6].

Приведенные факты свидетельствуют о высокой эффективности биопрепарата «Казбиосил», перспективности повышения его активности и широкого внедрения в практику.

Целью исследований было повышение эффективности биопрепарата «Казбиосил» в жидком и сухом виде за счет подбора оптимального состава питательной среды для культивирования бактерий, протекторов для сохранения жизнеспособности бактерий в жидком и сухом препарате, наполнителя для стандартизации сухих концентрированных препаратов, а также испытание полученных биопрепаратов при консервировании растительных кормов.

Материалы и методы исследования

В работе использовали штаммы бактерий: *Streptococcus lactis diastaticus* Ак-4, *Lactobacillus pentoaceticum* А-25 и *Propionibacterium shermanii* С-8.

Для поддержания культур молочнокислых и пропионовокислых бактерий использовали два варианта агаризованных питательных сред.

Первая среда имеет следующий состав (г/л): кукурузный экстракт – 15,0 (по сухому веществу); глюкоза – 20,0; $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ – 1,0; KH_2PO_4 – 0,3; K_2HPO_4 – 0,7; NaCl – 0,7; KCl – 0,7; пептон – 3,0; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ – 0,5; CoCl_2 – 0,01; CaCO_3 – 10,0; агар микробиологический – 12,0-15,0; вода питьевая из расчета доведения объема до 1 л; pH – 6,5-7,0.

Для поддержания культур использовали агаризованные питательные среды (г/л):

АМС

Кукурузный экстракт (по сухому веществу) – 15,0; крахмал растворимый – 10,0; мел – 10,0; автолизат дрожжей (с содержанием 0,6% аминного азота) – 10,0; агар – 20,0; вода питьевая из расчета доведения объема среды до 1 л.

ПМБ

Кукурузный экстракт (по сухому веществу) – 15,0; ксилоза или глюкоза – 20,0; NaCl – 2,0; MgSO_4 – 1,0; CaCO_3 – 10,0; агар – 20,0; вода питьевая из расчета доведения объема среды до 1 л.

ПКБ

Кукурузный экстракт – 15,0 (по сухому веществу); глюкоза – 20,0; аммоний серноокислый – 3,0; кобальт хлористый – 0,01; мел – 20,0; агар – 20,0; вода питьевая – до 1 литра.

Для получения маточной раскладки использовали те же питательные среды, но без агара.

Содержание жизнеспособных клеток молочнокислых и пропионовокислых бактерий устанавливали путем высева из разведений 10^{-6} , 10^{-7} и 10^{-8} в чашки Петри с соответствующей питательной средой для поддержания культур. Через 3 суток культивирования в термостате производили подсчет выросших колоний.

Численность микроорганизмов и биохимические показатели в силосных образцах были определены по общепринятым методам [7-9].

Результаты исследований и обсуждение

Проведены исследования по подбору оптимальных условий культивирования штаммов молочнокислых и пропионовокислых бактерий. За основу питательной среды взята кукурузно-сахарная среда, состоящая для молочнокислых бактерий из кукурузного экстракта (1,5% по сухому веществу (с.в.) и сахарозы (0,5-1,0%), для пропионовокислых бактерий – кукурузного экстракта (1,5% по с.в.), глюкозы (2,0%) и CoCl_2 (1мг%).

Другим вариантом питательной среды являются оптимизированная за счет добавления в ее состав крахмала, а также других компонентов. Оптимизированный состав ферментационной питательной среды для молочнокислых бактерий содержит (%): кукурузный экстракт – 2,0 (по сухому веществу); сахароза – 1,0; крахмал – 0,5; MnSO_4 –

0,02; вода питьевая – остальное. Состав ферментационной среды для пропионовокислых бактерий следующий (%): кукурузный экстракт – 2,0 (по сухому веществу); глюкоза – 1,0; крахмал – 0,5; аммоний серноокислый – 0,3; кобальт хлористый – 0,01; вода питьевая – остальное.

3-ий вариант питательной среды – комбинированная для молочнокислых и пропионовокислых бактерий, имеющая следующий состав (%): кукурузный экстракт – 1,5 (по сухому веществу); глюкоза – 2,0; $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ – 0,1; KH_2PO_4 – 0,03; K_2HPO_4 – 0,07; NaCl – 0,07; KCl – 0,07; пептон – 0,3; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ – 0,05; CoCl_2 – 0,01; CaCO_3 – 1,0; вода питьевая – остальное.

4-ый вариант питательной среды (МРС) для молочнокислых и пропионовокислых бактерий имеет состав, %: дрожжевой экстракт – 0,5; мясной экстракт – 1,0; пептон – 1,0; глюкоза – 2,0; аммоний лимоннокислый – 0,2; натрий уксуснокислый – 0,5; твин-80 – 0,1; KH_2PO_4 – 0,2; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ – 0,02; $\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ – 0,05; аммоний серноокислый – 0,1; CoCl_2 – 0,01, ; вода питьевая – остальное.

Питательные среды засеивали маточной расплодкой в количестве 5%. Выращивание производили в колбах в термостате при температуре 28-30°С – ПКБ и ПМБ, при 35-37°С – АМС и 32-33°С – АМС+ПКБ в течение 18-24 ч.

Результаты по выращиванию молочнокислых и пропионовокислых бактерий на описанных выше питательных средах представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Сравнительная характеристика роста бактерий на различных питательных средах

Наименование культуры	Варианты питательных сред	Титр клеток, млрд./мл
<i>P. shermanii</i> С-8	кукурузно-сахарная	1,0±0,2
	оптимизированная	2,8±0,3
	комбинированная	2,5±0,3
	МРС	3,0±0,3
<i>Lactobacillus pentoaceticum</i> А-25	кукурузно-сахарная	1,0±0,3
	оптимизированная	1,9±0,3
	комбинированная	1,5±0,3
	МРС	2,2±0,3
<i>Streptococcus lactis diastaticus</i> Ак-41	кукурузно-сахарная	1,0±0,3
	оптимизированная	3,2±0,3
	комбинированная	2,9±0,3
	МРС	3,8±0,3

Установлено, что меньшее накопление бактериальных клеток молочнокислых и пропионовокислых бактерий происходит на кукурузно-сахарной среде, большее – для всех исследуемых культур – на оптимизированной и среде МРС, которые могут быть использованы для производства жидких препаратов «Казбиосил».

Таким образом, для выращивания культур *Streptococcus lactis diastaticus* Ак-41 и *Lactobacillus pentoaceticum* А-25 подобран состав питательной среды, содержащей кукурузный экстракт – 2,0 (по сухому веществу); сахароза – 1,0; крахмал – 0,5; MnSO_4 – 0,02, вода питьевая – остальное. Оптимальная температура культивирования 35-37°С для АМС и 28-30°С для ПМБ, длительность культивирования – 18-24 часов.

Для культивирования пропионовокислых бактерий рекомендуется питательная среда, содержащая (%): кукурузный экстракт – 2,0 (по сухому веществу); глюкоза – 1,0; крахмал – 0,5; аммоний серноокислый – 0,3; кобальт хлористый – 0,01; вода питьевая – остальное. Оптимальная температура культивирования 28-30°С, длительность – 18-24 часов. На этой питательной среде можно проводить совместное культивирование АМС +

ПКБ при 28-30°C в течение 24 часов. при получении закваски для силосования высокосахаристых растений.

Для культивирования штаммов молочнокислых и пропионовокислых бактерий, входящих в состав закваски «Казбиосил», пригодна также питательная среда МРС вышеописанного состава.

Для стабилизации жизнеспособности бактерий при хранении в жидких культурах исследованы в качестве протекторов 7% сахарозы, а также 7% сахарозы в сочетании с 1,5% желатина. Протекторы добавляли в жидкие культуры перед закладкой на хранение в холодильник при температуре 6-8°C.

Результаты по хранению жидкого препарата «Казбиосил» с протекторами и без них представлены в таблице 2.

Таблица 2 – Результаты хранения жидкого препарата «Казбиосил» при температуре 6-8°C

Питательная среда и протекторы	Содержание жизнеспособных клеток в жидком препарате после хранения, КОЕ/г					
	исходное	Через 1 мес.	Через 2 мес.	Через 3 мес.	Через 4 мес.	Через 5 мес.
<i>S. lactis diastaticus</i> Ак-41						
1 ₁	1,8±0,3x10 ⁹	1,5±0,3x10 ⁹	1,4±0,3x10 ⁹	1,2±0,2x10 ⁹	6,4±0,3x10 ⁸	5,0±0,5x10 ⁷
1 ₂	2,0±0,5x10 ⁹	1,8±0,4x10 ⁹	1,9±0,5x10 ⁹	1,6±0,3x10 ⁹	5,5±0,4x10 ⁸	7,3±0,6x10 ⁷
1 ₃	1,4±0,2x10 ⁹	1,2±0,3x10 ⁹	1,1±0,4x10 ⁹	1,0±0,3x10 ⁹	1,9±0,6x10 ⁸	1,7±0,7x10 ⁷
2 ₁	3,2±0,4x10 ⁹	3,0±0,3x10 ⁹	2,5±0,4x10 ⁹	2,5±0,3x10 ⁹	6,3±0,5x10 ⁸	6,0±0,6x10 ⁷
2 ₂	3,5±0,4x10 ⁹	3,4±0,5x10 ⁹	3,2±0,3x10 ⁹	2,4±0,4x10 ⁹	6,1±0,4x10 ⁸	4,1±0,6x10 ⁷
2 ₃	2,9±0,3x10 ⁹	2,5±0,4x10 ⁹	2,2±0,4x10 ⁹	2,0±0,3x10 ⁹	2,0±0,7x10 ⁸	5,5±0,6x10 ⁷
<i>L. pentoaceticum</i> А-25						
1 ₁	2,5±0,6x10 ⁹	2,5±0,4x10 ⁹	2,0±0,5x10 ⁹	1,5±0,5x10 ⁹	5,3±0,6x10 ⁸	4,2±0,7x10 ⁷
1 ₂	2,1±0,5x10 ⁹	2,0±0,3x10 ⁹	2,0±0,7x10 ⁹	1,8±0,3x10 ⁹	5,2±0,2x10 ⁸	4,5±0,5x10 ⁷
1 ₃	1,6±0,4x10 ⁹	1,4±0,3x10 ⁹	1,2±0,3x10 ⁹	1,0±0,2x10 ⁹	1,0±0,3x10 ⁸	2,0±0,7x10 ⁷
2 ₁	2,4±0,3x10 ⁹	2,2±0,5x10 ⁹	1,8±0,2x10 ⁹	1,6±0,1x10 ⁹	5,5±0,7x10 ⁸	4,5±0,3x10 ⁷
2 ₂	2,3±0,3x10 ⁹	2,0±0,5x10 ⁹	1,6±0,2x10 ⁹	1,4±0,1x10 ⁹	5,0±0,7x10 ⁸	4,7±0,3x10 ⁷
2 ₃	2,0±0,3x10 ⁹	1,7±0,5x10 ⁹	1,3±0,2x10 ⁹	1,0±0,1x10 ⁹	4,0±0,7x10 ⁷	2,1±0,3x10 ⁷
<i>P. shermanii</i> С-8						
1 ₁	2,5±0,6x10 ⁹	2,5±0,4x10 ⁹	2,0±0,5x10 ⁹	1,5±0,5x10 ⁹	5,0±0,6x10 ⁸	4,2±0,7x10 ⁷
1 ₂	2,1±0,5x10 ⁹	2,0±0,3x10 ⁹	2,0±0,7x10 ⁹	1,8±0,3x10 ⁹	5,4±0,2x10 ⁸	4,3±0,5x10 ⁷
1 ₃	1,6±0,4x10 ⁹	1,4±0,3x10 ⁹	1,2±0,3x10 ⁹	1,0±0,2x10 ⁹	2,0±0,3x10 ⁸	2,3±0,7x10 ⁷
2 ₁	2,7±0,3x10 ⁹	2,4±0,5x10 ⁹	2,0±0,2x10 ⁹	1,8±0,1x10 ⁹	5,0±0,7x10 ⁸	4,3±0,3x10 ⁷
2 ₂	2,4±0,3x10 ⁹	2,2±0,5x10 ⁹	1,8±0,2x10 ⁹	1,6±0,1x10 ⁹	5,5±0,7x10 ⁸	4,2±0,3x10 ⁷
2 ₃	2,4±0,3x10 ⁹	1,4±0,5x10 ⁹	1,2±0,2x10 ⁹	1,0±0,1x10 ⁹	4,0±0,7x10 ⁷	2,0±0,3x10 ⁷

Примечание – 1 - среда оптимизированная, 2 - среда МРС. Знаменатели – 1 - протектор - 7% сахарозы в сочетании с 1,5% желатина, 2 - 7% сахарозы, 3 - контроль без протектора.

Как видно из представленной таблицы, количество жизнеспособных клеток бактерий сохраняется на необходимом уровне при хранении жидкого препарата в холодильнике в течение 3 месяцев во всех вариантах опыта. Через 4 месяца стандартный титр сохраняется у всех культур на обеих питательных средах с использованием в качестве протекторов 7% сахарозы в сочетании с 1,5% желатина или 7% сахарозы. В остальных вариантах титр клеток находится в пределах $4,0 \pm 0,7 \times 10^7$ - $1,9 \pm 0,6 \times 10^8$ КОЕ/мл, что ниже стандартного уровня ($5,0 \times 10^8$ КОЕ/мл). Через 5 месяцев хранения во всех вариантах жидкого препарата титр составлял $n \times 10^7$ КОЕ/мл.

Таким образом, срок годности жидкой закваски при хранении без протектора при температуре 6-8 °С составляет 3 месяца со дня изготовления, а с сахарозой или сахарозой в сочетании с желатином в качестве протекторов – 4 месяца.

Для получения сухого препарата выращенную жидкую культуру концентрировали с помощью центрифугирования в 10-12 раз, затем в качестве протектора добавляли в нее в растворенном виде 7% сахарозы + 1,5% желатина или же эти компоненты в сочетании с 7% сухого обезжиренного молока (СОМ). Полученную взвесь после тщательного перемешивания разливали в металлические лотки и высушивали в сублимационной сушилке Liobeta-35 при следующем режиме сушки:

Заморозка	-30 °С – 10 ч
Заморозка	-60 °С – 5 ч
Вакуум	0,9 мПА
Сушка 1	-26 °С – 6 ч
Вакуум	1,0 мПА
Сушка 2	+20 °С – 18 ч
Сушка 3	+30 °С – 2 ч
Продолжительность сушки	26 часов

Результаты высушивания бактерий с различными защитными компонентами представлены в таблице 3.

Таблица 3 – Показатели качества сухих препаратов, полученных сублимационным способом

Штаммы	Защитные компоненты	Титр КЖ, млрд. КОЕ/мл	Титр сухого препарата, млрд. КОЕ/г		
			исходный	через 5 мес.	через 12 мес.
<i>S. lactis diastaticus</i> Ак-41	1	3,0	30,0	25,0	16,2
	2	3,2	35,0	30,0	28,0
<i>P. shermanii</i> С-8	1	3,5	37,5	26,2	20,0
	2	3,8	40,0	35,0	30,0
<i>L. pentoaceticum</i> А-25	1	2,8	33,5	23,0	18,0
	2	2,5	35,0	28,7	23,0

Примечание – 1) 7% сахарозы + 1,5% желатина, 2) 7% сахарозы + 1,5% желатина + 7% СОМ

Из представленной таблицы видно, что при использовании обоих протекторов получают качественные сухие препараты, содержащие жизнеспособные клетки в количестве от 30 до 40 КОЕ/г. Однако, при использовании в качестве протектора совместно сахарозы, желатина и СОМ выживаемость бактерий при хранении несколько выше.

При производстве сухих препаратов «Казбиосил» проводят стандартизацию сублимационно высушенных концентратов бактерий до титра не менее 2 млрд.КОЕ/г.

Подбор наполнителей для стандартизации сухих препаратов произведен на примере амилотического молочнокислого стрептококка (АМС). Исходный препарат был получен путем сублимационного высушивания отцентрифугированной биомассы с

использованием в качестве защитных компонентов 7,0% СОМ, 7,0% сахарозы и 1,5% желатина. Титр сухого препарата равнялся 11×10^{10} КОЕ/г. Для стандартизации препарата использовали крахмал картофельный, муку пшеничную, молоко сухое обезжиренное и бентонит до содержания жизнеспособных клеток $10-18 \times 10^9$ КОЕ/г.

Для ускоренного определения выживаемости АМС в препаратах с различными наполнителями использовали метод прогноза стойкости, заключающийся в прогревании образцов препаратов при 60°C в течение 15 минут с последующим определением выживших клеток (таблица 4).

Таблица 4 – Влияние наполнителей, используемых для стандартизации препарата, на выживаемость бактерий при хранении

Наполнитель при стандартизации	Титр бактерий при хранении, КОЕ/г				
	исходный	после прогревания	3 мес.	7 мес.	12 мес.
Бентонит	13×10^9	3×10^9	8×10^9	8×10^9	7×10^9
Мука пшеничная	10×10^9	$5,3 \times 10^8$	2×10^9	3×10^8	2×10^8
СОМ	18×10^9	13×10^9	16×10^9	14×10^9	13×10^9
Крахмал	17×10^9	14×10^9	15×10^9	12×10^9	11×10^9

Установлено, что лучшая выживаемость АМС происходит при использовании в качестве наполнителя сухого обезжиренного молока и картофельного крахмала. В этих вариантах после прогрева титр бактерий практически не изменился. При введении в препарат пшеничной муки количество жизнеспособных клеток после прогревания снизилось на 1 порядок.

Через 12 месяцев хранения в холодильнике стандартизированных препаратов в них установлены жизнеспособные клетки в количестве от 2×10^8 до 13×10^9 КОЕ/г. Больше число бактериальных клеток выявлено в вариантах с сухим обезжиренным молоком и картофельным крахмалом, меньше – с мукой пшеничной. Таким образом, для стандартизации сухих заквасок «Казбиосил» можно использовать сухое обезжиренное молоко или крахмал картофельный.

Результаты по хранению сухих препаратов «Казбиосил», стандартизованных СОМ, представлены в таблице 5.

Таблица 5 – Хранение стандартизованных СОМ сухих препаратов «Казбиосил» при температуре $+6^\circ\text{C}$

Содержание жизнеспособных клеток в сухих препаратах после хранения, КОЕ/г					
№ партии	исходное	через 2 мес.	через 5 мес.	через 7 мес.	через 12 мес.
АМС-1	$2,5 \pm 0,2 \times 10^9$	$2,6 \pm 0,3 \times 10^9$	$2,5 \pm 0,6 \times 10^9$	$2,5 \pm 0,4 \times 10^9$	$2,1 \pm 0,5 \times 10^9$
АМС-2	$3,2 \pm 0,5 \times 10^9$	$3,2 \pm 0,4 \times 10^9$	$3,1 \pm 0,3 \times 10^9$	$3,0 \pm 0,3 \times 10^9$	$2,5 \pm 0,2 \times 10^9$
АМС-3	$2,9 \pm 0,2 \times 10^9$	$2,6 \pm 0,3 \times 10^9$	$2,5 \pm 0,5 \times 10^9$	$2,3 \pm 0,2 \times 10^9$	$2,2 \pm 0,4 \times 10^9$
ПКБ-4	$3,5 \pm 0,4 \times 10^9$	$3,5 \pm 0,5 \times 10^9$	$3,0 \pm 0,3 \times 10^9$	$2,8 \pm 0,6 \times 10^9$	$2,5 \pm 0,3 \times 10^9$
ПКБ-5	$2,6 \pm 0,5 \times 10^9$	$2,7 \pm 0,8 \times 10^9$	$2,5 \pm 0,6 \times 10^9$	$2,5 \pm 0,4 \times 10^9$	$2,3 \pm 0,2 \times 10^9$
ПКБ-6	$2,7 \pm 0,3 \times 10^9$	$2,5 \pm 0,4 \times 10^9$	$2,5 \pm 0,2 \times 10^9$	$2,3 \pm 0,3 \times 10^9$	$2,1 \pm 0,3 \times 10^9$
ПМБ-7	$3,0 \pm 0,3 \times 10^9$	$2,8 \pm 0,2 \times 10^9$	$2,7 \pm 0,5 \times 10^9$	$2,5 \pm 0,4 \times 10^9$	$2,2 \pm 0,2 \times 10^9$
ПМБ-8	$2,8 \pm 0,2 \times 10^9$	$2,6 \pm 0,4 \times 10^9$	$2,5 \pm 0,3 \times 10^9$	$2,3 \pm 0,3 \times 10^9$	$2,2 \pm 0,2 \times 10^9$
ПМБ-9	$2,7 \pm 0,5 \times 10^9$	$2,6 \pm 0,4 \times 10^9$	$2,4 \pm 0,3 \times 10^9$	$2,4 \pm 0,4 \times 10^9$	$2,3 \pm 0,2 \times 10^9$

Как видно из представленной таблицы, количество жизнеспособных клеток бактерий при хранении сухих препаратов в холодильнике в течение 12 месяцев остается на достаточном уровне (не менее 2,0 млрд. КОЕ/г) во всех вариантах опыта.

Испытание препаратов «Казбиосил» при консервировании растительных кормов проведено в ТОО «Амиран». При этом сенаж заложен из люцерны и ржи (50:50) с жидкой закваской «Казбиосил»-АМС, кукурузный силос - с закваской «Казбиосил»-АМС+ПКБ.

На 1 тонну силосуемого сырья расходовали 30 мл жидкой закваски, которую разбавляли в 1 л питьевой воды. На 100 тонн корма 5 л жидкой закваски сначала разводили в 10 литрах (ведро) воды, а затем в бочке со 100 литрами воды. Закваску вносили в силосную массу с помощью разбрызгивателя, представляющего собой бочку на 100 литров с трубкой-капельницей, установленную на трактор, трамбуемый силос.

Результаты микробиологического и биохимического анализа образцов консервированного корма с закваской «Казбиосил» через 3 месяца хранения представлены в таблице 6.

Таблица 6 – Микробиологические и биохимические показатели сенажа из люцерны и ржи, и кукурузного силоса

Варианты опыта	Влажность, %	рН	Общая кислотность, Т	Аммиак, %	Органические кислоты, %					Микробиология, млн/г		
					свободные			связанные		ОМЧ	лактобактерии	споры и плесневые
					молочная	уксусная	масляная	уксусная	масляная			
Сенаж (люцерна+рожь 50:50)	60,0	4,4	42,0	0,02	0,80	0,59	0,0	0,35	0,0	4,4	3,0	0,0
Силос (кукуруза)	68,0	4,2	100,0	0,01	1,12	0,56	0,0	0,31	0,0	25,0	5,0	0,0

По органолептическим показателям кукурузный силос имел цвет мокрой соломы, запах малосольного огурца, структура растения сохранена, рН корма равнялся 4,2. Низкое содержание аммиака в корме свидетельствует о подавлении роста в нем гнилостных бактерий.

Микробиологические исследования показали присутствие в силосе из кукурузы молочнокислых бактерий и отсутствие спорных бактерий и плесневых грибов.

По полученным результатам химического анализа кукурузного силоса проведена оценка его качества в соответствии с существующими стандартами. Сопоставительный анализ показателей качества силоса приведен в таблице 7.

Таблица 7 – Анализ показателей качества силоса в соответствии с ОСТ 10202-97

Наименование показателя	Норма для класса			Образец силоса кукурузного
	I	II	III	
Массовая доля сухого вещества, % не менее	26	20	16	32,0
Масляной кислоты, % не более	0,1	0,2	0,3	0,0
Молочной кислоты в общем количестве (молочной, уксусной, масляной) кислот, % не менее	55	50	40	67,0
pH силоса из кукурузы	3,8-4,3	3,7-4,4	3,6-4,5	4,2

Как видно из представленных материалов, по органолептическим, микробиологическим показателям и составу органических кислот образец кукурузного силоса можно отнести к 1 классу качества.

Сенаж из люцерны и ржи имел цвет светлый хаки, запах – слабо консервированных овощей, структура растений сохранена. В нем содержатся молочнокислые бактерии и отсутствуют споровые бактерии и плесневые грибы (таблица 5).

Присутствие в сенаже органических кислот молочной и уксусной и pH 4,4 свидетельствуют о прохождении в сенаже молочнокислого брожения и консервации корма.

По полученным результатам проведена оценка качества сенажа в соответствии с существующим стандартом, которая представлена в таблице 8.

Таблица 8 – Качество сенажа в соответствии с ОСТ 10201-97

Показатель	Нормы для класса			Сенаж из люцерны и ржи
	I	II	III	
Массовая доля сухого вещества, %	40-60	40-60	40-60	57
Массовая доля масляной кислоты, %, не более	-	0,3	0,6	0

Приведенные показатели по массовой доле сухого вещества и масляной кислоты в представленном образце соответствуют норме. Все это свидетельствует о получении качественного корма из люцерны и ржи.

Проведена оценка качества кукурузного силоса и сенажа из житняка, приготовленных с сухой закваской «Казбиосил» в ТОО «Алтынсарино» Костанайской области.

По полученным результатам микробиологического и химического анализа кукурузного силоса с сухой закваской «Казбиосил» проведена оценка его качества в соответствии с существующими стандартами. Сопоставительный анализ показателей качества силоса по основным параметрам приведен в таблице 9.

Таблица 9 – Требования к качеству кукурузного силоса (ОСТ 10202-97)

Наименование показателя	Норма для класса			Силос кукурузный с закваской
	I	II	III	
1	2	3	4	5
Массовая доля сухого вещества, % не менее	26	20	16	29,2
Массовая доля в сухом веществе сырого протеина, % не менее	7,5	7,5	7,5	8,7

Продолжение таблицы 9

1	2	3	4	5
Сырая клетчатка, % не более	30	33	35	30,0
Сырая зола, % не более	10	11	13	7,5
Масляная кислота, % не более	0,1	0,2	0,3	0,03
Молочная кислота в общем количестве (молочной, уксусной, масляной) кислот, % не менее	55	50	40	87,4
pH силоса из кукурузы	3,8-4,3	3,7-4,4	3,6-4,5	3,8
Каротин в сухом веществе мг/кг, не менее	20	20	10	27,6

Как видно из представленной таблицы, силос с закваской «Казбиосил» по таким показателям, как массовая доля сухого вещества, массовая доля в сухом веществе сырого протеина, процент молочной кислоты от общего количества органических кислот, содержание каротина превосходит нормы, установленные для первого класса.

Микробиологические исследования показали присутствие в силосе молочнокислых и пропионовокислых бактерий и отсутствие споровых бактерий и плесневых грибов.

По органолептическим, микробиологическим и химическим показателям кукурузный силос с сухой закваской «Казбиосил» можно отнести к 1 классу качества.

Анализ качества образцов сенажа из житняка представлен в таблице 10.

Таблица 10 – Требования к качеству сенажа согласно ОСТ 10201-97

Показатель	Нормы для класса			Сенаж из житняка с закваской «Казбиосил»
	I	II	III	
Массовая доля сухого вещества, %	40-60	40-60	40-60	50,4
Массовая доля в сухом веществе сырого протеина, % не менее	12	10	8	12,5
Массовая доля в сухом веществе сырой клетчатки, % не более	30	33	35	30,0
Массовая доля в сухом веществе масляной кислоты, % не более	-	0,3	0,6	-
Массовая доля в сухом веществе сырой золы, % не более	10	11	13	6,5

Как видно из представленной таблицы, все приведенные показатели соответствуют высокому качеству сенажа.

Микробиологические исследования показали присутствие в сенаже с закваской «Казбиосил» молочнокислых бактерий и отсутствие споровых бактерий и плесневых грибов. В сенаже без закваски отсутствовали молочнокислые бактерии, однако присутствовали споровые бактерии.

Преимуществом сенажа с закваской является также более высокое содержание в нем сахара (на 0,8%), кальция (на 0,5%), фосфора (на 0,1%), каротина (на 3,9 мг/кг), переваримого протеина (на 0,7%) по сравнению с сенажом без закваски.

По органолептическим, микробиологическим и биохимическим показателям сенаж из житняка, приготовленный с закваской «Казбиосил», можно отнести к качественному корму.

Таким образом, в результате проведенных исследований разработаны оптимальные питательные среды для культивирования молочнокислых и пропионовокислых бактерий при производстве заквасок «Казбиосил».

Установлено, что срок годности жидкой закваски при хранении без протектора при температуре 6-8 °С составляет 3 месяца со дня изготовления, а с сахарозой или сахарозой в сочетании с желатином в качестве протекторов – 4 месяца.

При производстве сухой закваски «Казбиосил» сублимационное высушивание концентрированной с помощью центрифугирования биомассы бактерий проводят с использованием в качестве протекторов 7% сахарозы, 1,5% желатина и 7% сухого обезжиренного молока. В качестве наполнителя при стандартизации сухого концентрата бактерий до необходимого титра рекомендовано использовать сухое обезжиренное молоко или картофельный крахмал. Установлено, что при хранении в холодильнике срок годности сухих препаратов «Казбиосил», приготовленных по разработанной технологии, составляет 12 месяцев со дня изготовления.

Показано, что с помощью жидкой и сухой заквасок «Казбиосил» можно получать качественный корм из различного вида растительного сырья.

Литература:

1 Селиванов Д.Г., Солдатова В.В., Йылдырым Е.А. Грамотный подход к силосованию. Консервант «Биотроф 2+» доказал свою эффективность // Животноводство России. – 2018. – №4. – С.40-42.

2 Пат. РФ 2477966 С2 Способ силосования зеленой массы кормовых культур / Левахин В.И., Левахин Г.И., Левахин Ю.И., Рогачев Б.Г., Поберухин М.М. и др., опубл. 27.03.2013.

3 Саданов А.К., Гаврилова Н.Н., Ратникова И.А. Консервирование растительных кормов. – Алматы: ТОО «Эверо», 2012. – 208 с.

4 Пат. РК 24804 МПК: С12R 1/46, А23К 3/02, С12N 1/02, С12N 1/20 Закваска «Казбиосил» для силосования растительных кормов (варианты) / Ратникова И.А., Айткельдиева С.А., Саданов А.К., Гаврилова Н.Н., опубл. 15.04.2014.

5 Пат. РК 23492 МПК: С12N 1/20, С12N 1/02 Способ производства сухой бактериальной закваски для силосования кормов / Ратникова И.А., Айткельдиева С.А., Саданов А.К., Гаврилова Н.Н., опубл. 15.12.2010.

6 Пат. РК 23491 МПК: С12N 1/02, С12N 1/20 Способ получения пастообразного препарата для силосования кормов / Гаврилова Н.Н., Саданов А.К., Ратникова И.А., Айткельдиева С.А., опубл. 15.12.2010.

7 Методы биохимического исследования силоса. – Дубровицы: ВИЖ, 1967. – 89 с.

8 Методы биохимического исследования растений / Под. ред. д-ра биолог. наук А.И. Ермакова. – Изд. 2-е, перераб. и доп. – Ленинград: Колос. Ленингр. отд-ние, 1972. – 456 с.

9 Методические указания по оценке качества и питательности кормов / Г.С. Сычев, В.В. Лепешкин. – М.: ЦИНАО, 2002. – 76 с.

Н.Н. ГАВРИЛОВА¹, А.К. САДАНОВ¹, И.А. РАТНИКОВА^{1*}, Е.Ж. ШОРАБАЕВ²,
С.Э. ОРАЗЫМБЕТ¹, Г.К. ТАУБЕКОВА², Р.Ж., КАПТАГАЙ¹, Л.А. КОШЕЛЕВА¹,
У.Ж. КЕРЕМБЕКОВА¹, Ж.Т. МУСАБЕКОВ¹, С.Б. ДЖАЙЛАУОВА¹

¹«Микробиология және вирусология ғылыми-өндірістік орталығы» ЖШС,
Алматы, Қазақстан

²" Өндірістік микробиология" ЖШС, Алматы, Қазақстан

*e-mail: iratnikova@list.ru

СҰЙЫҚ ЖӘНЕ ҚҰРҒАҚ ТҮРІНДЕ "КАЗБИОСИЛ" ПРЕПАРАТЫН ЖАСАУ

Түйін

Жүргізілген зерттеулер нәтижесінде "Казбиосил" ашытқысын өндіруде сүт қышқылы мен пропион қышқылы бактерияларын өсіру үшін қолайлы қоректік орталар дайындалынды.

6-8 °С температурада протекторсыз сақтау кезінде сұйық ашытқының жарамдылық мерзімі дайындалған күннен бастап 3 айды, ал протектор ретінде желатинмен бірге сахарозамен немесе сахарозамен бірге 4 айды құрайтыны анықталынды.

"Казбиосил" құрғақ ашытқысын өндіру кезінде бактериялардың биомассасын центрифугалау көмегімен қойылтылған сублимациялық кептіруді протектор ретінде 7% сахароза, 1,5% желатин және 7% құрғақ майсыздандырылған сүтті пайдалана отырып жүргізеді. Бактериялардың құрғақ концентратын қажетті титрге стандарттау кезінде толтырғыш ретінде майсыз сүт ұнтағы немесе картоп крахмалы ұсынылады. Тоңазытқышта сақтау кезінде дайындалған технология бойынша дайындалған "Казбиосил" құрғақ препараттарының жарамдылық мерзімі дайындалған күннен бастап 12 айды құрайтыны анықталды.

"Казбиосил" сұйық және құрғақ ашытқысының көмегімен әртүрлі өсімдік шикізатының түрлерінен сапалы азық алуға болатындығы көрсетілді.

Кілтті сөздер: бактериялар, сүтқышқылы, пропион қышқылы, протекторлар, ашытқы, культивирлеу, концентрат.

IRSTI: 34.57.21

N.N. GAVRILOVA¹, A.K. SADANOV¹, I.A. RATNIKOVA^{1*}, E.J. SHORABAEV², S.E.
ORAZYMBET¹, G.K. TAUBEKOVA², R.J. KAPTAGAI¹, L.A. KOSHELEVA¹,
U.Zh. KEREMBEKOVA¹, J.T. MUSABEKOV¹, S.B. JAILAUOVA¹

¹LLP " Research and Production Center of Microbiology and Virology," Almaty, Kazakhstan

² LLP "Industrial Microbiology", Almaty, Kazakhstan

*e-mail: iratnikova@list.ru

CREATION OF KAZBIOSIL BIOPREPARATION IN LIQUID AND DRY FORM

Summary

As a result of the studies, optimal culture media for the cultivation of lactic acid and propionic acid bacterias in the production of Kazbiosil starters were developed.

The shelf life of the liquid starter during storage without a tread at a temperature of 6-8 ° C is found to be 3 months from the date of manufacture, and with sucrose or sucrose in combination with gelatin as protectors - 4 months.

During production of Kazbiosil dry starter, sublimation drying of bacteria biomass concentrated by centrifugation is carried out using 7% sucrose, 1.5% gelatin and 7% defatted milk powder as protectors. It is recommended to use dry defatted milk or potato starch as a filler when standardizing the

dry concentrate of bacteria to the required titer. It was established that when stored in a refrigerator, the shelf life of Kazbiosil dry preparations prepared according to the developed technology is 12 months from the date of manufacture.

It has been shown that with the help of liquid and dry starter "Kazbiosil" it is possible to obtain high-quality feed from various types of vegetable raw materials.

Key words: bacteria, lactic acid, propionic acid, protectors, starter, cultivation, concentrate.

Feed plays a decisive role not only as the main source of animal productivity, but also to a large extent characterize the production efficiency of the industry, since more than 50% of the costs fall on feeding.

Among the activities to strengthen the livestock feed base, one of the leading places belongs to the production of high-quality silage feed, which should occupy the main share in winter livestock rations.

Silosated food is universal, as it provides the animal body with proteins, carbohydrates and essential vitamins. Reducing nutrient losses and improving the quality of harvested herbaceous feed is a real reserve for intensification of fodder production and acquires a strategic direction at the present stage.

Recently, the technology of silting feed with the use of biological preservatives has become widespread. The live lactic acid microorganisms contained therein cause a rapid decrease in pH due to the formation of lactic acid. In a short time, food is preserved with the preservation of dry matter, protein, vitamins and other nutrients.

Currently, various preparations of silage starters are offered for biological preservation of plant feeds. Known starter for silting and haemorrhaging of plant feeds "Biotrophe 2 +" (Russia) based on strains of lactic acid bacteria *Lactobacillus plantarum* and *Enterococcus faecium* [1].

Lactobifadol preparation [2] containing a combination of bacterial mass in the form of *Lactobacillus acidophilus* and *Streptococcus faecium* is intended for silting green mass of fodder crops. The use of the biologics improves the quality of the obtained feed by increasing the protein safety, the specific weight of lactic acid and the nutritional content of the feed in general, but it is not able to protect the silage from high-saccharide plants from overoxidation, which can cause acidoses in animals.

A number of other bioconservatives are also known: *Litosil* (Ukraine), *Laxil* (Belarus), universal starter (Nizhny Novgorod, Russia), *Microbelsil* (Czech Republic), *Bonsilage* and *Biosil* (Germany), *Biomax 5* and *Biomax GP* (Denmark), etc., containing mixed cultures of lactic acid bacteria. At the same time, the same sourdough is used for canning both easily and difficult-to-suck plants. In this case, coarse feed silage is possible only after preliminary treatment, as well as in a mixture with easily sifting plants or with various additives: grain waste, molasses, flour, whey, etc. [3].

The technology of preparation of a silo with use of the bacterial Kazbiosil ferment specialized for vegetable raw materials of a certain type is offered Promyshlennaya mikrobiologiya LLP: difficult to suck plants (a clover, a cock's head, a lucerne, cereals grass mixtures, the reed natural forbs) straw and other coarse-rolling remains of crop production, high-sugary easily siloed plants (corn, sunflower, a sorghum) in optimum and highly damp (75-85%) growth phases.

The Kazbiosil biopreparation [4] consists of highly active strains of lactic acid and propionic acid bacteria. Amylolytic lactic acid streptococcus *lactis diastaticus* (ALC), which is part of a specialized bacterial starter, has a complex of hydrolytic enzymes that can involve not only simple sugars, but also complex polysaccharides, for example, dextrin and starch, in lactic acid fermentation. Therefore, it is used to preserve difficult-to-suck feed with a humidity range of 60 to 80%. *Lactobacillus pentose-inhibiting* lactic acid bacteria (P-SLAB) are active acid-forming agents when using pentose sugars of non-food raw materials, therefore they

are recommended for straw siltation. When straw is moistened with 1% saline solution till moisture content is 65-70%, bacteria ferment xylose and arabinose with formation of organic acids, acidifying feed till pH 4.4-5.2. Propionic acid bacteria *Propionibacterium shermanii* (PKB) form propionic and acetic acids when fermenting sugars and organic acids, are a producer of vitamin B₁₂. The feed is prevented from peroxidation and moulding, enriched with vitamin B₁₂. They are used in conjunction with ALC in the siltation of highly saccharide plants.

Creation of specialized bioconservants for different types of plant raw materials allows to expand the range of plants and wastes of field growing involved in fodder production for preparation of high-quality silage or haylage.

The product is available in the form of a liquid culture and a uniform white to cream powder [5, 6].

These facts indicate the high effectiveness of the Kazbiosil biologic, the prospects for increasing its activity and widespread implementation in practice.

The purpose of the studies was to increase the effectiveness of the Kazbiosil biologic in liquid and dry form by selecting the optimal composition of the culture medium for culturing bacteria, protectors for preserving the viability of bacteria in a liquid and dry preparation, a filler for standardizing dry concentrated preparations, as well as testing the obtained biologics when preserving plant feed.

Materials and methods of reaserch

Strains of bacteria were used in the work: *Streptococcus lactis diastaticus* Ak-4, *Lactobacillus pentoaceticum* A-25 and *Propionibacterium shermanii* S-8.

Two variants of agarised culture media were used to maintain lactic acid and propionic acid bacteria cultures.

The first medium has the following composition (g/l): corn extract - 15.0 (dry matter); glucose - 20.0; (NH₄)₂SO₄ - 1.0; KN₂PO₄ - 0.3; K₂NPO₄ - 0.7; NaCl - 0.7; KCl - 0.7; peptone - 3.0; MgSO₄ × 7H₂O - 0.5; CoCl₂ - 0.01; CaCO₃ - 10.0; microbiological agar - 12.0-15.0; drinking water based on volume increase to 1 l; pH 6.5-7.0.

Agarized culture media (g/l) were used to maintain the cultures:

ALS

Corn extract (dry matter) - 15.0; soluble starch - 10.0; chalk - 10.0; yeast autolysate (with content of 0.6% amine nitrogen) - 10.0; agar - 20.0; drinking water based on bringing the volume of the medium to 1 liter.

P-SLAB

Corn extract (dry matter) - 15.0; xylose or glucose - 20.0; NaCl - 2.0; MgSO₄ - 1.0; CaCO₃ - 10.0; agar - 20.0; drinking water based on bringing the volume of the medium to 1 liter.

PAB

Corn extract - 15.0 (dry matter); glucose - 20.0; ammonium sulphate - 3.0; cobalt chloride - 0.01; chalk - 20.0; agar - 20.0; drinking water - up to 1 liter.

The same culture media but no agar were used to prepare the mother liquor.

The content of viable lactic acid and propionic acid bacteria cells was established by inoculation from dilutions 10⁻⁶, 10⁻⁷ and 10⁻⁸ into petri dishes with the appropriate culture maintenance medium. After 3 days of cultivation, the grown colonies were counted in the thermostat.

Microbial abundance and biochemical parameters in silage samples were determined by conventional methods [7-9].

Research results and discussion

Studies were carried out to select the optimal conditions for culturing strains of lactic acid and propionic acid bacteria. The nutrient medium is based on a corn-sugar medium consisting of lactic acid bacteria from corn extract (1.5% by dry substance (sv) and sucrose (0.5-1.0%), for propionic acid bacteria - corn extract (1.5% by sv), glucose (2.0%) and CoC_{12} (1 mg%).

Another variant of the culture medium is optimized by adding starch as well as other components to its composition. The optimized composition of the fermentation culture medium for lactic acid bacteria contains (%): corn extract - 2.0 (dry matter); sucrose - 1.0; starch - 0.5; MnSO_4 - 0.02; drinking water - the rest. The composition of the fermentation medium for propionic acid bacteria is as follows (%): corn extract - 2.0 (dry matter); glucose - 1.0; starch - 0.5; ammonium sulphate - 0.3; cobalt chloride - 0.01; drinking water - the rest.

The 3rd variant of the culture medium is combined for lactic acid and propionic acid bacteria, having the following composition (%): corn extract - 1.5 (dry matter); glucose - 2.0; $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ - 0.1; KN_2RO_4 - 0.03; K_2NPO_4 - 0.07; NaCl - 0.07; KCl - 0.07; peptone - 0.3; $\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ - 0.05; CoCl_2 - 0.01; CaCO_3 - 1.0; drinking water - the rest.

The 4th version of the culture medium (MRS) for lactic acid and propionic acid bacteria has the composition, %: yeast extract - 0.5; meat extract - 1.0; peptone - 1.0; glucose - 2.0; ammonium citric acid - 0.2; sodium acetic acid - 0.5; tween-80 - 0.1; KH_2PO_4 - 0.2; $\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ - 0.02; $\text{MnSO}_4 \times 4\text{H}_2\text{O}$ - 0.05; ammonium sulphate - 0.1; CoCl_2 - 0.01; drinking water - the rest.

Culture media were inoculated with 5% masterbatch. Cultivation was carried out in flasks in a thermostat at a temperature of 28-30 °C - PAB and P-SLAB, at 35-37 °C - ALC and 32-33 °C - ALC + PAB for 18-24 hours.

The results of growing lactic acid and propionic acid bacteria on the above-described culture media are presented in Table 1.

Table 1 - Comparative characteristics of bacterial growth on different nutrient media

Culture name	Culture Media Options	Cell titer, bln/mL
<i>P. shermanii</i> C-8	corn and sugar	1,0±0,2
	optimized	2,8±0,3
	combined	2,5±0,3
	MRS	3,0±0,3
<i>Lactobacillus pentoaceticum</i> A-25	corn and sugar	1,0±0,3
	optimized	1,9±0,3
	combined	1,5±0,3
	MRS	2,2±0,3
<i>Streptococcus lactis diastaticus</i> Ак-41	corn and sugar	1,0±0,3
	optimized	3,2±0,3
	combined	2,9±0,3
	MRS	3,8±0,3

It was found that less accumulation of bacterial cells of lactic acid and propionic acid bacteria occurs on corn-sugar medium, more - for all studied crops - on optimized and MRS medium, which can be used for the production of liquid preparations "Kazbiosil."

Thus, for the cultivation of cultures *Streptococcus lactis diastaticus* Ак-41 and *Lactobacillus pentoaceticum*, the composition of the nutrient medium containing corn extract A-25 selected - 2.0 (dry matter); sucrose - 1.0; starch - 0.5; MnSO_4 - 0.02, drinking water - the rest. Optimal 35-37°C cultivation temperature for ALC and 28-30 °C for P-SLAB, cultivation duration - 18-24 hours.

For cultivation of propionic acid bacteria, a nutrient medium is recommended, containing (%): corn extract - 2.0 (dry matter); glucose - 1.0; starch - 0.5; ammonium sulphate - 0.3; cobalt chloride - 0.01; drinking water - the rest. Optimal cultivation temperature 28-30°C, duration - 18-24 hours. Co-cultivation of ALC + PAB at 28-30°C for 24 hours can be carried out on this culture medium. obtaining a starter for siltation of high-saccharide plants.

For culturing strains of lactic acid and propionic acid bacteria included in the composition of the starter "Kazbiosil," the culture medium of the above composition is also suitable.

To stabilize the viability of bacteria when stored in liquid cultures, 7% sucrose, as well as 7% sucrose in combination with 1.5% gelatin, were investigated as protectors. The protectors were added to the liquid cultures before being stored in a refrigerator at a temperature of 6-8°C.

The results of storage of the liquid product Kazbiosil with and without protectors are presented in Table 2.

Table 2 - Results of storage of liquid product "Kazbiosil" at 6-8°C

Culture medium and	Content of viable cells in the liquid product after storage, CFU/g					
	Initial	After 1 month	After 2 month	After 3 month	After 4 month	After 5 month
<i>S. lactis diastaticus</i> Ак-41						
1 ₁	1,8±0,3x10 ⁹	1,5±0,3x10 ⁹	1,4±0,3x10 ⁹	1,2±0,2x10 ⁹	6,4±0,3x10 ⁸	5,0±0,5x10 ⁷
1 ₂	2,0±0,5x10 ⁹	1,8±0,4x10 ⁹	1,9±0,5x10 ⁹	1,6±0,3x10 ⁹	5,5±0,4x10 ⁸	7,3±0,6x10 ⁷
1 ₃	1,4±0,2x10 ⁹	1,2±0,3x10 ⁹	1,1±0,4x10 ⁹	1,0±0,3x10 ⁹	1,9±0,6x10 ⁸	1,7±0,7x10 ⁷
2 ₁	3,2±0,4x10 ⁹	3,0±0,3x10 ⁹	2,5±0,4x10 ⁹	2,5±0,3x10 ⁹	6,3±0,5x10 ⁸	6,0±0,6x10 ⁷
2 ₂	3,5±0,4x10 ⁹	3,4±0,5x10 ⁹	3,2±0,3x10 ⁹	2,4±0,4x10 ⁹	6,1±0,4x10 ⁸	4,1±0,6x10 ⁷
2 ₃	2,9±0,3x10 ⁹	2,5±0,4x10 ⁹	2,2±0,4x10 ⁹	2,0±0,3x10 ⁹	2,0±0,7x10 ⁸	5,5±0,6x10 ⁷
<i>L. pentoaceticum</i> А-25						
1 ₁	2,5±0,6x10 ⁹	2,5±0,4x10 ⁹	2,0±0,5x10 ⁹	1,5±0,5x10 ⁹	5,3±0,6x10 ⁸	4,2±0,7x10 ⁷
1 ₂	2,1±0,5x10 ⁹	2,0±0,3x10 ⁹	2,0±0,7x10 ⁹	1,8±0,3x10 ⁹	5,2±0,2x10 ⁸	4,5±0,5x10 ⁷
1 ₃	1,6±0,4x10 ⁹	1,4±0,3x10 ⁹	1,2±0,3x10 ⁹	1,0±0,2x10 ⁹	1,0±0,3x10 ⁸	2,0±0,7x10 ⁷
2 ₁	2,4±0,3x10 ⁹	2,2±0,5x10 ⁹	1,8±0,2x10 ⁹	1,6±0,1x10 ⁹	5,5±0,7x10 ⁸	4,5±0,3x10 ⁷
2 ₂	2,3±0,3x10 ⁹	2,0±0,5x10 ⁹	1,6±0,2x10 ⁹	1,4±0,1x10 ⁹	5,0±0,7x10 ⁸	4,7±0,3x10 ⁷
2 ₃	2,0±0,3x10 ⁹	1,7±0,5x10 ⁹	1,3±0,2x10 ⁹	1,0±0,1x10 ⁹	4,0±0,7x10 ⁷	2,1±0,3x10 ⁷
<i>P. shermanii</i> С-8						
1 ₁	2,5±0,6x10 ⁹	2,5±0,4x10 ⁹	2,0±0,5x10 ⁹	1,5±0,5x10 ⁹	5,0±0,6x10 ⁸	4,2±0,7x10 ⁷
1 ₂	2,1±0,5x10 ⁹	2,0±0,3x10 ⁹	2,0±0,7x10 ⁹	1,8±0,3x10 ⁹	5,4±0,2x10 ⁸	4,3±0,5x10 ⁷
1 ₃	1,6±0,4x10 ⁹	1,4±0,3x10 ⁹	1,2±0,3x10 ⁹	1,0±0,2x10 ⁹	2,0±0,3x10 ⁸	2,3±0,7x10 ⁷
2 ₁	2,7±0,3x10 ⁹	2,4±0,5x10 ⁹	2,0±0,2x10 ⁹	1,8±0,1x10 ⁹	5,0±0,7x10 ⁸	4,3±0,3x10 ⁷
2 ₂	2,4±0,3x10 ⁹	2,2±0,5x10 ⁹	1,8±0,2x10 ⁹	1,6±0,1x10 ⁹	5,5±0,7x10 ⁸	4,2±0,3x10 ⁷
2 ₃	2,4±0,3x10 ⁹	1,4±0,5x10 ⁹	1,2±0,2x10 ⁹	1,0±0,1x10 ⁹	4,0±0,7x10 ⁷	2,0±0,3x10 ⁷
Note - 1 - optimized medium, 2 - MRS medium. Denominators - 1 - protector - 7% sucrose in combination with 1.5% gelatin, 2 - 7% sucrose, 3 - control without protector.						

As can be seen from the presented table, the number of viable bacterial cells is maintained at the required level when the liquid preparation is stored in the refrigerator for 3 months in all test variants. After 4 months, the standard titer was maintained in all cultures on both culture media using 7% sucrose in combination with 1.5% gelatin or 7% sucrose as protectors. In other variants, the cell titer is within the limits of $4,0 \pm 0,7 \times 10^7$ - $1,9 \pm 0,6 \times 10^8$ CFU/ml, which is below the standard level ($5,0 \times 10^8$ CFU/ml). After 5 months storage in all liquid formulations, the titer was $n \times 10^7$ CFU/ml.

Thus, the shelf life of the liquid starter when stored without a tread at a temperature of 6-8°C is 3 months from the date of manufacture, and with sucrose or sucrose in combination with gelatin as treads - 4 months.

To obtain a dry preparation, the grown liquid culture was concentrated by centrifugation 10-12 times, then 7% sucrose + 1.5% gelatin was added as a protector, or these components were combined with 7% defatted milk powder (SMP). After thorough mixing, the resulting slurry was poured into metal trays and dried in a freeze dryer Liobeta-35 under the following drying conditions:

Freezing - 30°C - 10 h

Freezing - 60°C - 5 h

Vacuum - 0.9 mPA

Drying 1 - 26°C - 6 h

Vacuum 1.0 mPA

Drying 2 + 20°C - 18 h

Drying 3 + 30°C - 2 h

Drying time 26 hours

The results of drying bacteria with different protective components are shown in Table

3.

Table 3 - Quality parameters of dry products obtained by the sublimation method

Strains	Protective components	CF titer, billion CFU/mL	Dry product titer, billion CFU/g		
			Initial	After 5 months	After 12 months
1	2	3	4	5	6
<i>S. lactis diastaticus</i> AK-41	1	3,0	30,0	25,0	16,2
	2	3,2	35,0	30,0	28,0
1	2	3	4	5	6
<i>P. shermanii</i> C-8	1	3,5	37,5	26,2	20,0
	2	3,8	40,0	35,0	30,0
<i>L. pentoaceticum</i> A-25	1	2,8	33,5	23,0	18,0
	2	2,5	35,0	28,7	23,0

Note - 1) 7% sucrose + 1.5% gelatin, 2) 7% sucrose + 1.5% gelatin + 7% SMP

It can be seen from the table that the use of both protectors produces qualitative dry preparations containing viable cells in an amount of 30 to 40 CFU/g. However, when sucrose, gelatin and SMP are used as a protector together, the survival of bacteria during storage is slightly higher.

At production of dry preparations "Kazbiosil" it is necessary to standardize sublimation dried concentrates of bacteria to titer of at least 2 billion. CFU/g.

The selection of excipients for the standardization of dry preparations was made on the example of amyolytic lactic acid streptococcus (ALC). The parent preparation was prepared by sublimation drying the centrifuged biomass using 7.0% SMP, 7.0% sucrose and 1.5% gelatin as protective components. The titer of the dry product was 11×10^{10} CFU/g. Potato starch, wheat

flour, dry defatted milk and bentonite were used to standardize the preparation to a viable cell content of $10\text{-}18 \times 10^9$ CFU/g.

To rapidly determine the survival of ALC in preparations with different excipients, a method for predicting resistance was used, which consisted in warming drug samples at 60°C for 15 minutes, followed by the determination of surviving cells (Table 4).

Table 4 - Effect of excipients used for product standardization on bacterial survival at storage

Filler during standardization	Bacterial titer at storage, CFU/g				
	Initial	After warming up	3 months	7 months	12 months
Bentonite	13×10^9	3×10^9	8×10^9	8×10^9	7×10^9
Wheat flour	10×10^9	$5,3 \times 10^8$	2×10^9	3×10^8	2×10^8
SMP	18×10^9	13×10^9	16×10^9	14×10^9	13×10^9
Starch	17×10^9	14×10^9	15×10^9	12×10^9	11×10^9

It has been found that the best survival of ALC occurs when using skimmed milk powder and potato starch as a filler. In these embodiments, after warming up, the titer of bacteria practically did not change. When wheat flour is injected into the preparation, the number of viable cells after warming decreased by 1 order of magnitude.

After 12 months of storage in the refrigerator of standardized preparations, viable cells in the amount of 2×10^8 to 13×10^9 CFU/g were installed in them. A larger number of bacterial cells were detected in versions with dry defatted milk and potato starch, a smaller number - with wheat flour. Thus, dry defatted milk or potato starch can be used to standardize Kazbiosil dry starter.

The results for storage of Kazbiosil dry products standardized by SMP are presented in Table 5.

Table 5 - Storage of standardized SMP of Kazbiosil dry products at $+6^\circ\text{C}$

Batch No.	Content of viable cells in dry preparations after storage, CFU/g				
	Initial	After 2 months	After 5 months	After 7 months	After 12 months
ALC-1	$2,5 \pm 0,2 \times 10^9$	$2,6 \pm 0,3 \times 10^9$	$2,5 \pm 0,6 \times 10^9$	$2,5 \pm 0,4 \times 10^9$	$2,1 \pm 0,5 \times 10^9$
ALC-2	$3,2 \pm 0,5 \times 10^9$	$3,2 \pm 0,4 \times 10^9$	$3,1 \pm 0,3 \times 10^9$	$3,0 \pm 0,3 \times 10^9$	$2,5 \pm 0,2 \times 10^9$
ALC-3	$2,9 \pm 0,2 \times 10^9$	$2,6 \pm 0,3 \times 10^9$	$2,5 \pm 0,5 \times 10^9$	$2,3 \pm 0,2 \times 10^9$	$2,2 \pm 0,4 \times 10^9$
PAB-4	$3,5 \pm 0,4 \times 10^9$	$3,5 \pm 0,5 \times 10^9$	$3,0 \pm 0,3 \times 10^9$	$2,8 \pm 0,6 \times 10^9$	$2,5 \pm 0,3 \times 10^9$
РАБ-5	$2,6 \pm 0,5 \times 10^9$	$2,7 \pm 0,8 \times 10^9$	$2,5 \pm 0,6 \times 10^9$	$2,5 \pm 0,4 \times 10^9$	$2,3 \pm 0,2 \times 10^9$
РАБ-6	$2,7 \pm 0,3 \times 10^9$	$2,5 \pm 0,4 \times 10^9$	$2,5 \pm 0,2 \times 10^9$	$2,3 \pm 0,3 \times 10^9$	$2,1 \pm 0,3 \times 10^9$
P-SLAB-7	$3,0 \pm 0,3 \times 10^9$	$2,8 \pm 0,2 \times 10^9$	$2,7 \pm 0,5 \times 10^9$	$2,5 \pm 0,4 \times 10^9$	$2,2 \pm 0,2 \times 10^9$
P-SLAB-8	$2,8 \pm 0,2 \times 10^9$	$2,6 \pm 0,4 \times 10^9$	$2,5 \pm 0,3 \times 10^9$	$2,3 \pm 0,3 \times 10^9$	$2,2 \pm 0,2 \times 10^9$
P-SLAB-9	$2,7 \pm 0,5 \times 10^9$	$2,6 \pm 0,4 \times 10^9$	$2,4 \pm 0,3 \times 10^9$	$2,4 \pm 0,4 \times 10^9$	$2,3 \pm 0,2 \times 10^9$

As can be seen from the presented table, the number of viable bacterial cells during storage of dry preparations in the refrigerator for 12 months remains at a sufficient level (not less than 2.0 billion CFU/g) in all case studies.

Testing of Kazbiosil preparations during preservation of vegetable feeds was carried out in Amiran LLP. At the same time, hay is laid from alfalfa and rye (50:50) with liquid leaven "Kazbiosil" -ALC, corn silage - with leaven "Kazbiosil" -ALC + PAB.

1 ton of liquid starter was used per 30 ml of silage feed, which was diluted in 1 l of drinking water. For 100 tons of feed, 5 liters of liquid starter were first diluted in 10 liters (bucket) of water, and then in a barrel with 100 liters of water. The starter was introduced into

the silage mass using a sprinkler, which is a 100-liter barrel with a dropper tube mounted on a tractor ramming the silo.

The results of microbiological and biochemical analysis of samples of preserved feed with Kazbiosil starter after 3 months of storage are presented in Table 6.

Table 6 - Microbiological and biochemical parameters of alfalfa, rye and corn silage

Experience options	Humidity, %	pH	Total acidity, T	Ammonia, %	Organic acids, %					Microbiology, mln/g		
					free			connected		OM ₄	lactobacilli	spore and mold
					dairy	acetic	oil	acetic	oil			
Hay (alfalfa + rye 50:50)	60,0	4,4	42,0	0,02	0,80	0,59	0,0	0,35	0,0	4,4	3,0	0,0
Silo (corn)	68,0	4,2	100,0	0,01	1,12	0,56	0,0	0,31	0,0	25,0	5,0	0,0

According to organoleptic indicators, corn silage had a wet straw color, the smell of low-salted cucumber, the structure of the plant was preserved, the pH of the feed was 4.2. The low content of ammonia in the feed indicates a suppression of the growth of putrid bacteria in it.

Microbiological studies showed the presence of lactic acid bacteria in the corn silo and the absence of spore bacteria and mold fungi.

Based on the results of chemical analysis of corn silage, its quality was assessed in accordance with existing standards. Comparative analysis of silo quality parameters is given in Table 7.

Table 7 - Analysis of silo quality indicators in accordance with IS 10202-97

Indicator name	Class Norm			Corn Silo Sample
	I	II	III	
Dry matter mass fraction, % not less than	26	20	16	32,0
Butyric acid, % not more than	0,1	0,2	0,3	0,0
Lactic acid in general amount of (lactic, acetic, butyric) acids, % not less than	55	50	40	67,0
pH of corn silage	3,8-4,3	3,7-4,4	3,6-4,5	4,2

As can be seen from the presented materials, according to the organoleptic, microbiological indicators and the composition of organic acids, the sample of corn silage can be classified as class 1 quality.

Senage from alfalfa and rye had a light khaki color, the smell was poorly preserved vegetables, the structure of the plants was preserved. It contains lactic acid bacteria and is free of spore bacteria and mold fungi (Table 5).

The presence of organic acids of lactic and acetic acids in the haylage and pH 4.4 indicate the passage of lactic acid fermentation and preservation of feed in the haylage.

Based on the obtained results, haylage quality was assessed in accordance with the existing standard, which is presented in Table 8.

Table 8 - Haylage quality in accordance with IS 10201-97

Indicator	Class standards			Alfalfa and rye haylage
	I	II	III	
Dry matter mass fraction, %	40-60	40-60	40-60	57
Weight fraction of butyric acid, %, not more than	-	0,3	0,6	0

The given parameters for the mass fraction of dry substance and butyric acid in the presented sample comply with the norm. All this indicates the receipt of high-quality food from alfalfa and rye. The quality of corn silage and haylage from gritters prepared with dry sourdough "Kazbiosil" in Altynsarino LLP of Kostanay region was assessed.

Based on the obtained results of microbiological and chemical analysis of corn silage with Kazbiosil dry starter, its quality was assessed in accordance with existing standards. Comparative analysis of silo quality indicators by main parameters is given in Table 9.

Table 9 - Corn Silage Quality Requirements (IS 10202-97)

Indicator name	Class norm			Corn silage with sourdough
	I	II	III	
Dry matter mass fraction, % not less than	26	20	16	29,2
Mass fraction in dry substance raw protein, % not less than	7,5	7,5	7,5	8,7
Raw fiber, % not more than	30	33	35	30,0
Raw ash, % not more than	10	11	13	7,5
Butyric acid, % not more than	0,1	0,2	0,3	0,03
Lactic acid in general amount of (lactic, acetic, butyric) acids, % not less than	55	50	40	87,4
pH of corn silage	3,8-4,3	3,7-4,4	3,6-4,5	3,8
Carotene in dry substance mg/kg, not less than	20	20	10	27,6

As can be seen from the presented table, the Casbiosil starter silo in terms of such parameters as the mass fraction of dry matter, the mass fraction of raw protein in dry matter, the percentage of lactic acid from the total amount of organic acids, the carotene content exceeds the norms established for the first class.

Microbiological studies showed the presence of lactic acid and propionic acid bacteria in the silage and the absence of spore bacteria and mold fungi.

According to organoleptic, microbiological and chemical indicators, Kazbiosil corn silage with dry starter can be classified as class 1 quality.

Quality analysis of haylage samples from the granary is presented in Table 10.

Table 10 - Haylage quality requirements according to IS 10201-97

Indicator	Class standards			Senage from the granny with sourdough "Kazbiosil"
	I	II	III	
Dry matter mass fraction, %	40-60	40-60	40-60	50,4
Mass fraction in dry substance of crude protein, % not less than	12	10	8	12,5
Mass fraction in dry substance of crude fiber, % not more than	30	33	35	30,0
Mass fraction in dry substance of butyric acid, % not more than	-	0,3	0,6	-
Mass fraction in dry substance of raw ash, % not more than	10	11	13	6,5

As can be seen from the presented table, all the given indicators correspond to the high quality of haylage.

Microbiological studies showed the presence of lactic acid bacteria and the absence of spore bacteria and mold fungi in the haylage with Kazbiosil starter. There were no lactic acid bacteria in the haylage without starter, but spore bacteria were present.

The advantage of haylage with starter is also a higher content of sugar (by 0.8%), calcium (by 0.5%), phosphorus (by 0.1%), carotene (by 3.9 mg/kg), digestible protein (by 0.7%) compared to haylage without starter.

According to organoleptic, microbiological and biochemical indicators, haylage from granary prepared with Kazbiosil sourdough can be attributed to high-quality feed.

Thus, as a result of the studies, optimal culture media for the cultivation of lactic acid and propionic acid bacteria during the production of Kazbiosil starters were developed.

The shelf life of the liquid starter during storage without a tread at a temperature of 6-8°C is found to be 3 months from the date of manufacture, and with sucrose or sucrose in combination with gelatin as protectors - 4 months.

During production of Kazbiosil dry starter, sublimation drying of bacteria biomass concentrated by centrifugation is carried out using 7% sucrose, 1.5% gelatin and 7% defatted milk powder as protectors. It is recommended to use dry defatted milk or potato starch as a filler when standardizing the dry concentrate of bacteria to the required titer. It was established that when stored in a refrigerator, the shelf life of Kazbiosil dry preparations prepared according to the developed technology is 12 months from the date of manufacture.

It has been shown that with the help of liquid and dry starter "Kazbiosil" it is possible to obtain high-quality feed from various types of vegetable raw materials.

References

- 1 Selivanov D.G., Soldatova V.V., Yildirim E.A. Competent approach to silage. Preservative "Biotrof 2 +" has proven its effectiveness//Animal husbandry in Russia. – 2018. – №4. - S.40-42.
- 2 Pat. RF 2477966 S2 Method of Silencing Green Mass of Fodder Crops/V.I. Levakhin, G.I. Levakhin, Y.I. Levakhin, B.G. Rogachev, M.M. Poberukhin, et al., publ. 27.03.2013.
- 3 Sadanov A.K., Gavrilova N.N., Ratnikova I.A. Conservation of plant foods. - Almaty: Evero LLP, 2012. - 208 s.
- 4 Pat. RK 24804 MPK: C12R 1/46, A23K 3/02, C12N 1/02, C12N 1/20 Zakvaska "Kazbiosil" for silencing plant feed (options)/Ratnikova I.A., Aitkeldieva S.A., Sadanov A.K., Gavrilova N.N., publ. 15.04.2014.
- 5 Pat. RK 23492 MPK: C12N 1/20, C12N 1/02 Production Method of Dry Bacterial Starter for Feed Silencing/Ratnikova I.A., Aitkeldieva S.A., Sadanov A.K., Gavrilova N.N., publ. 15.12.2010.
- 6 Pat. RK 23491 MPK: C12N 1/02, C12N 1/20 Method of Producing a Paste Preparation for Feed Silencing/N.N. Gavrilova, A.K. Sadanov, I.A. Ratnikova, S.A. Aitkeldiyeva, publ. 15.12.2010.
- 7 Methods of biochemical research of silage. - Dubrovitsy: VIZH, 1967. - 89 s.
- 8 Methods of biochemical research of plants/Under. ed. Dr. Biologist. sciences A.I. Ermakov. - Ed. 2nd, reworked. and additional - Leningrad: Kolos. Leningr. Department, 1972. - 456 s.
- 9 Methodological Guidelines for Evaluation of Feed Quality and Nutritional Content/G.S. Sychev, V.V. Lepeshkin. - M.: TSINAO, 2002. - 76 s.