

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ПОСЛЕСПИРТОВОЙ БАРДЫ ДЛЯ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ МОЛОЧНОКИСЛЫХ И ПРОПИОНОВОКИСЛЫХ БАКТЕРИЙ

В. В. ШUTOва¹
Т. И. Ивинкина¹
И. В. Фадеева²
В. В. Ревин¹

¹Мордовский государственный университет им. Н. П. Огарева,
Саранск, Россия

²ОАО «МордовспиртЪ», Саранск, Россия

E-mail: biotech@moris.ru

При использовании фильтра послеспиртовой зерновой барды получены кормовые продукты, обогащенные живыми клетками лактобацилл и пропионовокислых бактерий, а также протеином. Введение хлорида кобальта в среду в концентрации 1,1 мг/л вызывает повышение содержания биомассы, живых клеток пропионовокислых бактерий и накопления протеина. Увеличение этих же параметров достигается совместным культивированием пар штаммов *Lactobacillus* и *Propionibacterium*. При совместном культивировании пропионовокислые бактерии следует вносить в барду после 3-часовой предварительной инкубации лактобацилл. Содержание нуклеиновых кислот в кормовых продуктах, полученных как с помощью отдельного, так и совместного культивирования бактерий, не превышает допустимой нормы (до 10 г/сут) потребления животными. Живые клетки лактобацилл и пропионовокислые бактерии содержатся в количестве, достаточном для обогащения желудочно-кишечного тракта животного.

Ключевые слова: *Lactobacillus*, *Propionibacterium freudenreichii*,
послеспиртовая барда.

Крупномасштабным жидким отходом производства этанола является послеспиртовая барда, частично применяемая как жидкая кормовая добавка, а частично сбрасываемая на очистные сооружения, что существенно ухудшает их работу. В связи с этим вопрос утилизации послеспиртовой барды, особенно в летний период, когда откорм животных ведется на пастбищах, весьма актуален. Отсутствие реализации жидкой барды может привести даже к остановке производства. Зерновая барда, полученная при производстве спирта, является перспективным сырьем в кормопроизводстве [1].

Молочнокислые и пропионовокислые бактерии — это микроорганизмы с большим биотехнологическим потенциалом. Благодаря высоким адгезивным свойствам они способны хорошо закрепляться на стенках кишечника, создавая защитный барьер для патогенных бактерий. Это достигается тем, что данные микроорганизмы синтезируют в процессе брожения молочную и пропионовую кислоты и другие соединения, подавляющие развитие

гнилостной микрофлоры желудочно-кишечного тракта. Они также принимают активное участие в синтезе незаменимых аминокислот и витаминов, способствующих повышению устойчивости организма к внешним воздействиям [2]. Эти биохимические свойства позволяют использовать данные бактерии для производства пробиотиков — препаратов и продуктов на основе живых микроорганизмов.

Включение пробиотиков в технологию выращивания молодняка — наиболее современный способ профилактики болезней желудочно-кишечного тракта, основанный на экологически безопасных механизмах поддержания высокого уровня колонизационной резистентности кишечника. Мировая практика доказала, что пробиотики предотвращают риск обсеменения кишечника теплокровных животных условно-патогенными бактериями и снижают частоту их выделения из органов животных при убое [3].

Пробиотики в отличие от антибиотиков не вызывают привыкания со стороны условно-патогенных микроорганизмов. Продук-

ты жизнедеятельности бактерий-пробионтов не накапливаются в органах и тканях животных и не влияют на товарное качество птицеводческой продукции. Пробиотики не усиливают экологические характеристики энтеробактерий, ответственных за вирулентность. Они безопасны для окружающей среды и обслуживающего персонала [4]. Пробиотические культуры используются в составе кормовых добавок для молодняка животных. Ими обогащают заменители цельного молока, витаминные, минеральные, энзимные кормовые добавки.

В настоящее время в ветеринарной практике используется целый спектр российских и импортных пробиотических препаратов, состоящий из 80 наименований.

В состав пробиотических лекарственных средств входят микроорганизмы, безопасные для здоровья человека и животных, обладающие широким спектром протективных свойств, в частности бифидобактерии видов *Bifidum adolescentis*, *B. bifidum*, *B. longum*; молочнокислые бактерии *Lactobacillus acidophilus*, *L. planlarum*, *L. bulgaricus*, *L. rhamnosus*, *L. fermentum*; стрептококки *Streptococcus faecium*; спорообразующие бактерии *Bacillus subtilis*, *B. licheniformis*, *B. cereus van Toyi*, *B. Panthothenticus*, *Ruminococcus albus*.

Создание кормовых пробиотических продуктов на основе перечисленных бактерий может помочь в решении проблемы комплексной утилизации отхода спиртовой промышленности — послеспиртовой барды, поскольку последняя содержит необходимые питательные вещества для их роста (углеводы, аминокислоты). Выращивание молочнокислых и пропионовокислых бактерий на барде перспективно для получения протеиново-витаминного кормового пробиотического продукта, отличающегося низкой себестоимостью, высокой питательной ценностью и антибактериальным действием.

В связи с этим целью работы было изучение условий культивирования молочнокислых бактерий рода *Lactobacillus* и *Propionibacterium* на послеспиртовой барде.

Материалы и методы

Объектами исследования служили молочнокислые бактерии рода *Lactobacillus* (*L. plantarum*; *L. fermentum*), в качестве источника которых использовали препарат «Лактобактерин» (ФГУП «НПО «Микроген», Россия); пропионовокислые бактерии

Propionibacterium freudenreichii, в качестве источника которых применяли закваску для сыров (фирма CHR HANSEN, Германия); послеспиртовая зерновая барда, выработанная на ОАО «Кемлянский спиртовой завод» (Россия).

Для получения инокулята лактобактерий во флакон препарата «Лактобактерин», содержащий $5 \cdot 10^9$ живых лактобактерий, добавляли 5 мл стерильной дистиллированной воды. Для получения инокулята пропионовокислых бактерий 10 мг исходной закваски суспендировали в 10 мл стерильной дистиллированной воды (количество живых клеток пропионовокислых бактерий — не менее 10^8 КОЕ/см³). Бактерии культивировали в течение 54 ч при 37 °С на грубом фильтрате послеспиртовой барды. Выращивание вели в колбах объемом 250 мл, содержащих 100 мл питательной среды, доводили рН до значения 6,0, стерилизовали при 121 °С 1 ч и вносили 2 мл инокулята пропионовокислых бактерий.

Для исследования влияния ионов Co^{2+} на рост пропионовокислых бактерий вносили 0,8; 1,1; 1,3 мг/л $CoCl_2$ в колбы с фильтратом послеспиртовой барды.

При изучении совместного культивирования бактерий колбы засеивали 1 мл инокулята молочнокислых бактерий и по 1 мл инокулята пропионовокислых бактерий: 1) одновременно с молочнокислыми бактериями; 2) через 1,5 ч; 3) через 3 ч; 4) через 4,5 ч; 5) через 6 ч культивирования молочнокислых бактерий.

Отбор проб с последующим определением рН, биомассы, нуклеиновых кислот и внеклеточного белка проводили через 24 и 54 ч.

Количество сухой биомассы определяли весовым методом. Содержание протеина регистрировали по обесцвечиванию раствора в результате связывания протеина красителем амидочерным 10 Б (Sigma, США) [5]. Нуклеиновые кислоты экстрагировали хлорной кислотой и измеряли оптическую плотность при длине волны 270 нм и 290 нм на спектрофотометре СФ-46 [6]. Метод определения живых клеток бактерий основан на способности факультативно анаэробных микроорганизмов размножаться на плотном питательном агаре при 37 ± 1 °С в течение 48 ч. Разведения культуральной жидкости засеивали в количестве 0,5 мл на чашки Петри и сверху заливали расплавленной и охлажденной до 40 °С питательной средой. Для подсчета клеток лактобацилл использовали среду следующего состава (г/л): мясного пептона — 10; дрожжевого экстракта — 5;

аскорбиновой кислоты — 1; $\text{KН}_2\text{PО}_4$ — 2,5; Na_2HPO_4 — 8,5; MgSO_4 — 0,12; мясной воды — 300 мл; агара — 15. Для подсчета клеток пропионовокислых бактерий использовали среду состава (г/л): глюкозы — 20, кукурузного экстракта — 20, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ — 3, $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ — 0,005, агара — 15.

Результаты и обсуждение

Пропионовокислые бактерии являются активными продуцентами витамина B_{12} , для биосинтеза которого необходимы ионы кобальта [7], поэтому прежде всего было исследовано влияние хлорида кобальта на их рост в среде, содержащей фильтрат послеспиртовой барды. Токсическое действие хлорида кобальта на животных в данном случае исключено, так как применяемые нами его дозы ниже используемых в препарате для ветеринарии «Кобальт хлорид в таблетках» (Ветеринарная компания МВК, РФ, http://m-vk.ru/products_22.html).

В исходном фильтрате послеспиртовой барды содержатся протеин и нуклеиновые кислоты в качестве продуктов жизнедеятельности клеток дрожжей, осуществлявших спиртовое брожение (табл. 1).

Таблица 1. Показатели фильтрата послеспиртовой барды

Продукт	pH	Протеин, мг/мл	Сухие вещества, г/л	Нуклеиновые кислоты, мкгНК/мл
Фильтрат послеспиртовой барды	4,43±0,02	4,23±0,01	27,4 ± 0,2	1,232 ± 0,003

В связи с тем, что исходный уровень pH послеспиртовой барды составлял 4,47, его значение доводили до оптимальной величины, необходимой для развития *Propionibacterium* (6,0).

Как показал опыт, глубинное культивирование пропионовокислых бактерий сопровождалось снижением уровня pH (рис. 1) при всех исследованных концентрациях соли кобальта. Это связано с тем, что в процессе роста микроорганизмы сбраживают сахара с образованием пропионовой кислоты [7].

Добавление ионов Co^{2+} в фильтрат послеспиртовой барды вызывало несколько большее закисление среды при культивировании бактерий по сравнению с контролем. По истечении 52 ч культивирования бактерий при концентрации соли кобальта

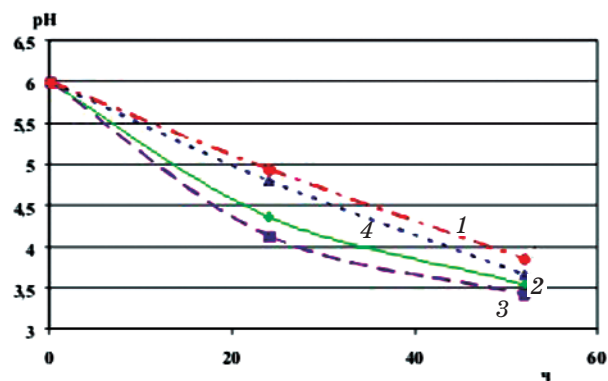


Рис. 1. Изменение pH при культивировании пропионовокислых бактерий на послеспиртовой барде с добавлением ионов кобальта (мг/л): 1 — контроль; 2 — 0,8; 3 — 1,1; 4 — 1,3 мг/л Co^{2+}

1,1 мг/л наблюдалось наибольшее снижение pH по сравнению с исходным значением — 3,42. Очевидно, полное отсутствие кобальта, как и его избыток, препятствует активному развитию пропионовокислых бактерий. Исходя из представленных данных можно сделать вывод, что наибольшее снижение pH, а следовательно, и более активное развитие бактерий наблюдалось в пробах с концентрацией ионов кобальта 1,1 мг/л.

В процессе роста бактерий происходило увеличение биомассы (рис. 2), что свидетельствует о том, что субстрат (фильтрат барды) содержал необходимые компоненты для роста пропионовокислых бактерий: витамины группы B, аминокислоты, органические кислоты, микроэлементы.

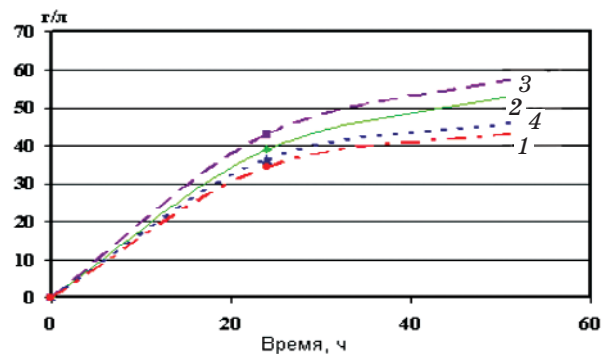


Рис. 2. Изменение содержания биомассы (г/л) при культивировании пропионовокислых бактерий на послеспиртовой барде с добавлением ионов кобальта (мг/л): 1 — контроль; 2 — 0,8; 3 — 1,1; 4 — 1,3 мг/л Co^{2+}

к 52 ч культивирования биомасса пропионовых бактерий, выращенных при концентрации соли кобальта 1,1 мг/л (58,0 г/л), оказалась выше, чем при остальных концентрациях; наименьший рост биомассы был

зафиксирован в контрольном образце без кобальта — 43,5 г/л, что может свидетельствовать об участии этого микроэлемента в обмене веществ пропионовокислых бактерий.

Протеин — основной компонент биомассы молочнокислых бактерий. Питательная ценность кормового продукта в значительной степени зависит от количества протеина в его составе. В исходном фильтрате барды (контроль) содержание протеина составляло 4,16 мг/см³ (рис. 3).

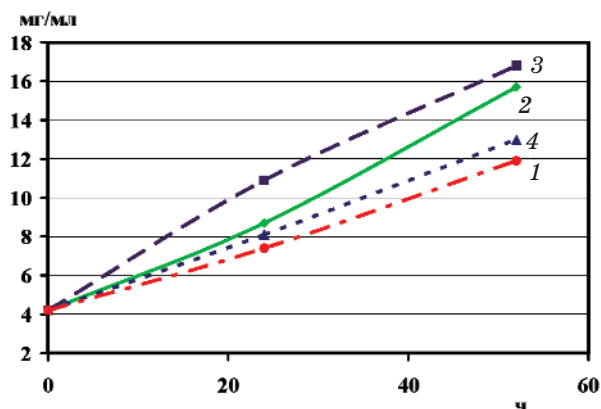


Рис. 3. Изменение содержания протеина (мг/мл) при культивировании пропионовокислых бактерий на послеспиртовой барде с добавлением ионов кобальта (мг/л): 1 — контроль; 2 — 0,8; 3 — 1,1; 4 — 1,3 мг/л Co²⁺

В процессе синтеза микробных клеток содержание протеина максимально увеличилось (до 16,8 мг/мл) при концентрации CoCl₂ 1,1 г/л, что составило 29% от общего количества биомассы. Минимальное содержание протеина было зафиксировано в контроле — 11,9 мг/мл.

Закономерное увеличение содержания нуклеиновых кислот, являющихся непременным компонентом клетки, наблюдалось во всех без исключения опытных образцах (рис. 4). К концу культивирования большее накопление нуклеиновых кислот было отмечено в вариантах с концентрацией ионов кобальта 1,1 мг/л — 1,51 мкгНК/мл; увеличение по сравнению с фильтратом барды составило 0,27 мкгНК/мл. Содержание нуклеиновых кислот является одним из основных показателей безопасности кормового продукта. Животные могут потреблять до 10 г нуклеиновых кислот в сутки [8].

Для нормальной работы желудочно-кишечного тракта животного необходимо, чтобы количество микроорганизмов в 1 г продукта составляло не менее 10⁶ КОЕ [9]. По истечении 48 ч роста наблюдалось увеличение содержания живых клеток бактерий на

фильтрате барды: при концентрации CoCl₂ 1,1 мг/л оно составило 1,33·10⁹ КОЕ/мл (рис. 5). В контроле зафиксировано наименьшее значение этого показателя.

Исходя из этих данных можно предполо-

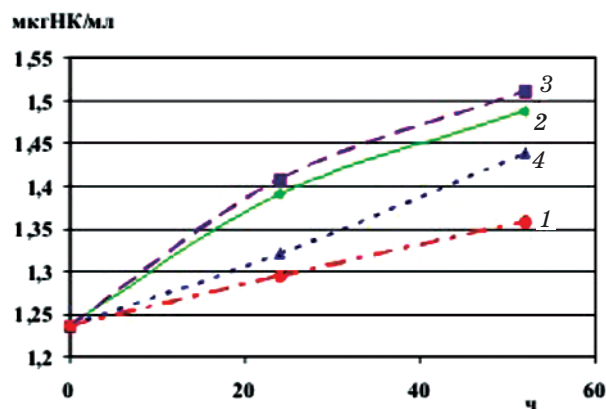


Рис. 4. Изменение содержания нуклеиновых кислот (мкгНК/мл) при культивировании пропионовокислых бактерий на послеспиртовой барде с добавлением ионов кобальта (мг/л): 1 — контроль; 2 — 0,8; 3 — 1,1; 4 — 1,3 мг/л Co²⁺

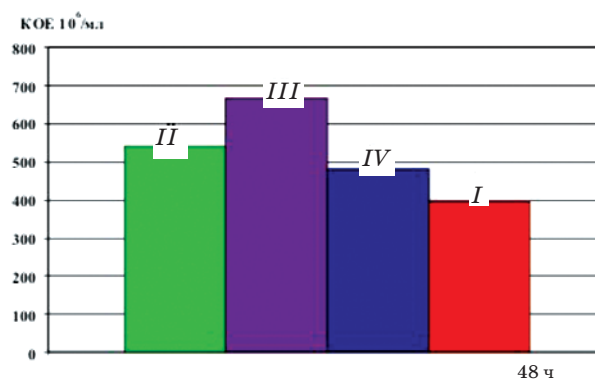


Рис. 5. Изменение количества живых клеток пропионовокислых бактерий в процессе культивирования на послеспиртовой барде с добавлением ионов кобальта (мг/л): I — контроль; II — 0,8; III — 1,1; IV — 1,3 мг/л Co²⁺

жить, что для обогащения фильтрата послеспиртовой барды протеином и живыми клетками бактерий следует использовать бактерии рода *Propionibacterium* и культивировать их с добавлением хлорида кобальта в концентрации 1,1 мг/л.

Пропионовокислые бактерии целесообразно культивировать совместно с молочнокислыми, поскольку они способны эффективно сбраживать лактат, являющийся продуктом жизнедеятельности этих микроорганизмов [10]. Поэтому было проведено совместное выращивание их при последовательном и одновременном внесении инокулятов.

Лучший рост микроорганизмов наблюдался в образцах с 3-часовой отсрочкой внесения пропионовокислых бактерий (рис. 6–10): значение рН снизилось до 3,17; содержание протеина увеличилось до 19,6 мг/мл, что составило 33% от уровня биомассы в 59,3 г/л — самой высокой среди опытных образцов. Содержание нуклеиновых кислот также было самым высоким — 1,5 мкг/мл, однако это значение не является критическим для животных и вполне укладывается в суточный предел потребления нуклеиновых кислот — 10 г [8]. Лактат, первоначально образуемый молочнокислыми палочками, сбраживается затем до пропионата, ацетата и углекислого газа [7].

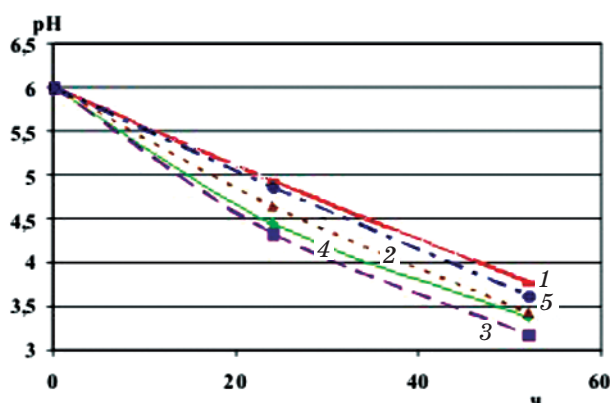


Рис. 6. Изменение рН в процессе культивирования пропионовокислых и молочнокислых бактерий на послеспиртовой барде при отсрочке внесения пропионовокислых бактерий (ч): 1 — 0; 2 — 1,5; 3 — 3; 4 — 4,5; 5 — 6

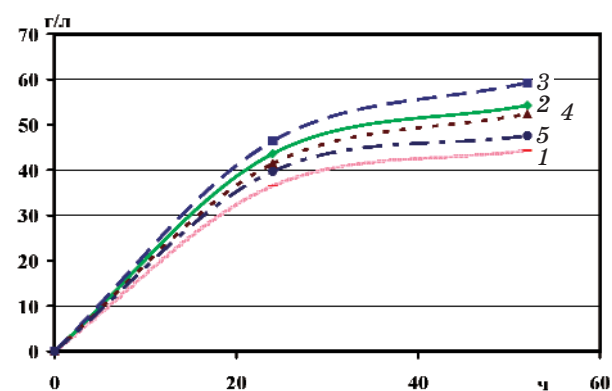


Рис. 7. Изменение количества биомассы (г/л) в процессе культивирования пропионовокислых и молочнокислых бактерий на послеспиртовой барде при отсрочке внесения пропионовокислых бактерий (ч): 1 — 0; 2 — 1,5; 3 — 3; 4 — 4,5; 5 — 6

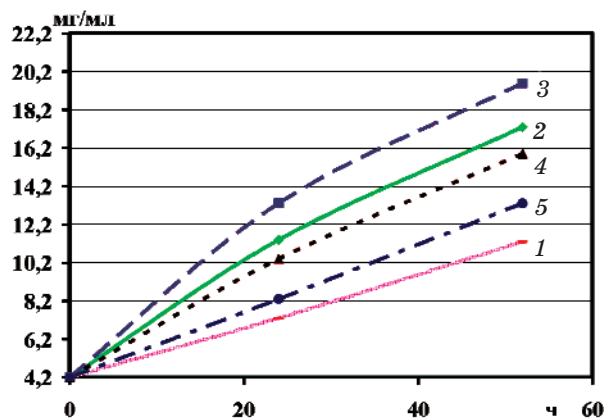


Рис. 8. Накопление протеина (мг/мл) пропионовокислыми и молочнокислыми бактериями в процессе культивирования на послеспиртовой барде при отсрочке внесения пропионовокислых бактерий (ч): 1 — 0; 2 — 1,5; 3 — 3; 4 — 4,5; 5 — 6

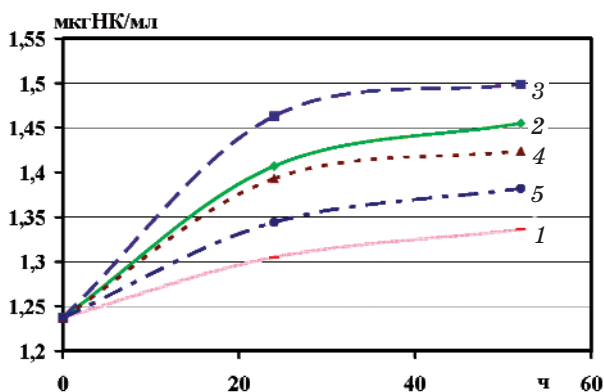


Рис. 9. Накопление нуклеиновых кислот (мкг/мл) пропионовокислыми и молочнокислыми бактериями в процессе культивирования на послеспиртовой барде при отсрочке внесения пропионовокислых бактерий (ч): 1 — 0; 2 — 1,5; 3 — 3; 4 — 4,5; 5 — 6

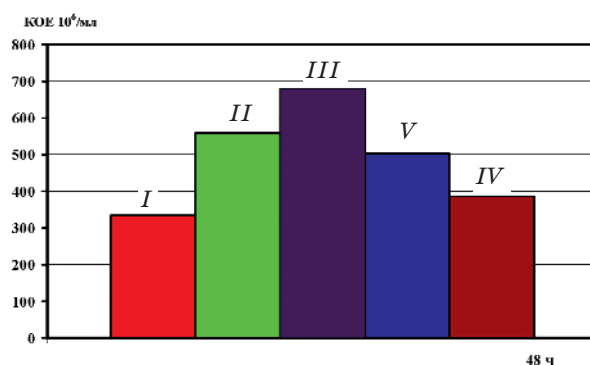


Рис. 10. Изменение количества живых клеток молочнокислых и пропионовокислых бактерий в процессе культивирования на фильтрате послеспиртовой барды при отсрочке внесения пропионовокислых бактерий (ч): I — 0; II — 1,5; III — 3; IV — 4,5; V — 6

Самыми неудовлетворительными оказались результаты при культивировании вариантов с 6-часовым предварительным культивированием лактобацилл и без предварительного культивирования (с одновременным внесением пропионовокислых и лактобактерий); отсюда следует вывод, что для хорошего роста пропионовокислых бактерий предварительная инкубация лактобацилл необходима, но не более 3 ч.

Более продолжительное предварительное выращивание *Lactobacillus*, по-видимому, приводит к интенсивному накоплению молочной кислоты, которую пропионовокислые бактерии не успевают полностью сбраживать. *L. plantarum* и *L. fermentum* являются гетероэнозимативными молочнокислыми бактериями, которые при росте сбраживают сахара с образованием молочной кислоты и других побочных продуктов [11].

В образцах с одновременным внесением и 6-часовой отсрочкой внесения пропионовокислых бактерий рН после 52 ч культивирования составлял, соответственно, 3,77 и 3,62; уровень биомассы — 44,4 и 47,6 г/л; содержание протеина — 11,3 мг/мл и 13,3 мг/мл. Содержание нуклеиновых кислот, как и следовало ожидать, также было меньше у лучшего варианта — 1,34 и 1,38 мкг/мл.

Наибольшее количество живых клеток культивируемых бактерий было отмечено в образцах с 3-часовой предварительной инкубацией лактобацилл (рис. 10). После 48 ч культивирования их число в среднем составило $1,36 \cdot 10^9$ КОЕ/мл. Минимальное количество живых клеток — $0,67 \cdot 10^9$ КОЕ/мл — было зафиксировано после 48 ч культивирования в образцах с одновременным внесением пропионовокислых и молочнокислых бактерий.

Качество полученных кормовых продуктов определяется такими показателями, как

количество живых клеток лактобацилл и пропионовокислых бактерий, уровень биомассы этих клеток, кислотность продукта, а также органолептическими показателями: цвет, запах, консистенция.

Цвет свежеприготовленных продуктов был светло-коричневым. Они обладали приятным хлебным запахом с легким спиртовым оттенком, присущим свежей послеспиртовой барде. Консистенция не отличалась плотной и однородной структурой. В ней присутствовали взвеси, муть, легкие хлопья — нормальные показатели роста культивируемых бактерий.

Хранение препаратов при температуре 4 °С в течение 30 сут не привело к изменению органолептических свойств. Содержание живых клеток микроорганизмов осталось на уровне, обеспечивающем лечебно-профилактический эффект (400–500 млн. КОЕ/мл).

В результате исследования получены кормовые продукты, обогащенные живыми клетками лактобацилл, пропионовокислых бактерий и протеином.

Таким образом, при культивировании пропионовокислых бактерий на фильтрате послеспиртовой барды установлено, что для увеличения биомассы, живых клеток пропионовокислых бактерий и накопления протеина целесообразно добавлять хлорид кобальта в концентрации 1,1 мг/л.

При выращивании бактерий на послеспиртовой барде инокулят пропионовокислых бактерий целесообразно вносить после 3 ч предварительной инкубации лактобацилл.

Содержание нуклеиновых кислот в препаратах, полученных как с помощью раздельного, так и совместного культивирования бактерий не превышает допустимой для животных нормы потребления.



ЛИТЕРАТУРА

1. Мандреа А. Г. Спиртовая барда. Технология утилизации // Пищевая промышленность. — 2004. — № 3. — С. 2–3.
2. Fessler D., Casey M. G., Puhan Z. Propionibacteria flora in Swiss raw milk from lowlands and alps // Lait. — 1999. — V. 79. — P. 211–216.
3. De Simone C., Vesely R., Bianchi S. B. et al. The role of probiotics in modulation of the immune system in man and in animals // Int. J. Immunother. — 1993. — V. 9. — P. 23–28.
4. Perdigon G., Alvarez S., Rachid M. et al. Immune system stimulation by probiotics // J. Dairy Sci. — 1995. — V. 78. — P. 1597–1606.
5. Бузун Г. А., Джемухадзе К. Н., Милешко Л. Д. Определение белка в растениях с помощью амидо-черного // Физиол. раст. — 1982. — Т. 29, вып. 1. — С. 198–204.

6. Практикум по биохимии / Под ред. С. Е. Северина, Г. А. Соловьевой. — М.: Изд-во МГУ, 1989. — 509 с.
7. Воробьева Л. И. Пропионовокислые бактерии. — М.: Изд-во МГУ, 1995. — 288 с.
8. Промышленная микробиология / Под ред. Н. С. Егорова. — М.: Высшая школа, 1989. — 680 с.
9. Леденев В. П. Технология утилизации и переработки барды в кормопродукты и рекомендации для их применения. — М.: Пищевая промышленность, 2003. — 68 с.
10. Хамагаева И. С., Качанина Л. М., Тумурова С. М. Биотехнология заквасок пропионовокислых бактерий. — Улан-Удэ: Изд-во ВСГТУ, 2006. — 172 с.
11. Квасников Е. В., Нестеренко О. А. Молочно-кислые бактерии. — М.: Наука, 1985. — 296 с.

**ВИКОРИСТАННЯ ПІСЛЯСПИРТОВОЇ
БАРДИ ДЛЯ КУЛЬТИВУВАННЯ
МОЛОЧНОКИСЛИХ І ПРОПІОНОВОКИСЛИХ
БАКТЕРІЙ**

*В. В. ШUTOVA¹, Т. І. ІVINKINA¹,
І. В. ФАДЕЄВА², В. В. РЕВІН¹*

¹Мордовський державний університет
ім. М. П. Огарьова, Саранськ, Росія
²ВАТ «МордовспиртЪ», Саранськ, Росія

E-mail: biotech@moris.ru

З використанням фільтрату післяспиртової зернової барди отримано кормові продукти, збагачені живими клітинами лактобацил і пропионовокислих бактерій, а також протеїном. Уведення хлориду кобальту в середовище в концентрації 1,1 мг/л викликає підвищення вмісту біомаси, живих клітин пропионовокислих бактерій і накопичення протеїну. Збільшення цих самих параметрів досягається сумісним культивуванням пар штамів *Lactobacillus* і *Propionibacterium*. За сумісного культивування пропионовокислі бактерії слід вносити до барди після 3-годинної попередньої інкубації лактобацил. Вміст нуклеїнових кислот в кормових продуктах, отриманих як за допомогою роздільного, так і сумісного культивування бактерій, не перевищує допустимої норми (до 10 г/добу) споживання тваринами. Живі клітини лактобацил і пропионовокислі бактерії містяться в кількості, достатній для збагачення шлунково-кишкового тракту тварини.

Ключові слова: *Lactobacillus*, *Propionibacterium freudenreichii*, післяспиртова барда.

**USE OF DISTILLERS GRAINS
FOR CULTIVATION OF LACTIC
AND PROPIONIC ACID BACTERIA**

*V. V. Shutova¹, T. I. Ivinkina¹,
I. V. Fadeeva², V. V. Revin¹*

¹Department of Biotechnology,
School of Biology, Mordovian State University,
Saransk, Russia

²LLC of «МордовспиртЪ», Saransk, Russia

E-mail: biotech@moris.ru

The fodder probiotic products enriched by live cells of lactic acid and propionic acid bacteria and protein by use distillers grains filtrate are received. Introduction of cobalt chloride in concentration of 1,1 mg/l causes increase of a biomass, live cages propionic acid bacteria maintenance and of protein accumulation. Increase in the same parametres is reached by mixed cultivation of strains steam of *Lactobacillus* and *Propionibacterium*. Propionic acid bacteria should be brought in the distillers grains after 3 sentry preliminary incubation of lactobacillus at mixed cultivation. The maintenance of nucleic acids in the fodder products received both by means of separate, and by means of mixed cultivation bacteria does not exceed admissible norm (to 10 g/days) consumption by animals. The quantity of lactobacillus and propionic acid bacteria live cells is sufficient for enrichment of a gastroenteric path of an animal.

Key words: *Lactobacillus*, *Propionibacterium freudenreichii*, distillers grains.