

ЯКІСТЬ ТА АЕРОБНА СТАБІЛЬНІСТЬ ФЕРМЕНТОВАНОГО ПЛЮЩЕНОГО ЗЕРНА КУКУРУДЗИ ЗА СУМІСНОЇ ІНТРОДУКЦІЇ ПРОБІОТИЧНИХ ШТАМІВ МОЛОЧНОКИСЛИХ БАКТЕРІЙ ТА ПРЕДСТАВНИКІВ *BACILLUS SUBTILIS*

М. Г. Передерій, Н. О. Кравченко, Л. В. Божок, О. М. Дмитрук

Інститут сільськогосподарської мікробіології та агропромислового виробництва НААН
вул. Шевченка, 97; м. Чернігів, 14035, Україна; e-mail: mashaperederii@ukr.net

Мета. З'ясувати вплив сумісної інтродукції пробіотичних штамів молочнокислих бактерій та *Bacillus subtilis* на якість та аеробну стабільність ферментованого плющеного зерна кукурудзи. **Методи.** Мікробіологічні, зоотехнічні. **Результати.** Консервоване плющене зерно кукурудзи дослідних та контрольних варіантів за результатами органолептичного аналізу мало збережену консистенцію з приємним фруктовим запахом. Збереженість сирової клітковини у сировині дослідних варіантів з обробкою її *Bacillus subtilis* BPT-B1 та за поєднаного застосування молочнокислих бактерій з аеробними бацилами була більшою на 10,0 % та 3,3 % відповідно щодо показників позитивного контролю (обробка зерна Субтіконом). Вміст протеїну у дослідних варіантах та позитивному контролі був вищим на 2,4–7,2 %, ніж у контрольному варіанті корму (без застосування мікроорганізмів). Після аеробної експозиції корму впродовж 14 діб збереженість сирової клітковини в усіх варіантах почала знижуватися, проте найбільші втрати (20 %) відзначено в контрольному варіанті (без інтродукції бактерій). Найбільші втрати протеїну спостерігали у контрольному варіанті (3,8 %). Кислотність після аеробного впливу у всіх варіантах дослідів залишалась в оптимальних межах — рН 3,9–4,2. На 70-у добу консервування корму відзначено збільшення чисельності молочнокислих бактерій на 2–3 порядки у зразках дослідних варіантів та позитивного контролю проти цього показника у вихідній сировині. Після доступу повітря до консервованого плющеного зерна кукурудзи упродовж 14 діб найменшу чисельність молочнокислих бактерій спостерігали в абсолютному контролі, найбільшу — у варіанті з сумісною інокуляцією штамами бактерій *Lactobacillus plantarum* KT-L18/1 та *Bacillus subtilis* BPT-B1. Патогенних та маслянокислих бактерій не виявлено. **Висновки.** Сумісне застосування пробіотичних штамів молочнокислих бактерій та *Bacillus subtilis* для консервування зерна кукурудзи сприяє збереженості поживних речовин, встановленню та підтримці оптимального рівня кислотності, запобігає аеробному псуванню корму.

Ключові слова: плющене зерно кукурудзи, біологічні консерванти, пробіотичні бактерії, аеробна стабільність, консервування.

Вступ. Консервування плющеного зерна кукурудзи, зібраного на ранніх стадіях стиглості, — перспективний, низькозатратний спосіб заготівлі високопоживного корму, що добре поїдається та засвоюється тваринами

[1–2]. Однак досягти максимального збереження поживних речовин у цьому кормі можна лише за використання новітніх ресурсозберігаючих технологій заготівлі рослинної сировини із застосуванням консервантів.

Аналіз останніх досліджень і публікацій. Найбільш поширеною альтернативою хімічним консервантам, застосування яких пов'язане з небезпекою для обслуговуючого персоналу, необхідністю використання техніки з антикорозійним захистом, а також ризиком захворювання тварин у разі передозування корму, є біологічні препарати.

Головна роль біоконсервантів полягає в ефективному зброджуванні цукру до молочної кислоти та швидкому підкисленні рослинної маси до рН 4,2–4,3, що спрямовує мікробіологічні процеси ферментації у бік найменших втрат поживних речовин у кормі.

Основою біологічних консервантів є живі мікроорганізми, переважно штами гомоферментативних молочнокислих бактерій, які є антагоністично активними щодо небажаних у процесі силосування мікроорганізмів та синтезують достатню кількість молочної кислоти для якісного консервування [3]. Перспективними для консервування сировини є також представники *Bacillus subtilis*, які використовуються у сільському господарстві у складі пробіотиків для тварин [4; 5]. На противагу молочнокислим бактеріям *B. subtilis* виявляють неабияку антифунгальну активність, що особливо важливо під час консервування плющеного вологого зерна кукурудзи, що схильне до аеробного псування внаслідок розвитку небажаних мікроорганізмів, особливо плісневих грибів та дріжджів [6; 7].

Сьогодні для підвищення ефективності біоконсервантів до їх складу вводять один чи декілька видів або штамів молочнокислих бактерій, що, за вдалого поєднання, забезпечує переважно молочнокисле бродіння на всіх етапах процесу ферментації рослинної сировини [18].

Мета досліджень — з'ясувати вплив на якість та аеробну стабільність ферментованого плющеного зерна кукурудзи за сумісної інтродукції пробіотичних штамів молочнокислих бактерій та *B. subtilis*.

Матеріали та методи досліджень. У дослідях використовували штами пробіотичних мікроорганізмів *B. subtilis* ВРТ-В1, *B. subtilis* В6у, *Lactobacillus plantarum* КТ-Л18/1, *L. plantarum* L-32 з колекції лабораторії пробіотиків Інституту сільськогосподарської мікробіології та агропромислового виробництва НААН. Штами виділено зі шлун-

ково-кишкового тракту молодняка великої рогатої худоби та з консервованої зеленої маси багаторічних трав. *B. subtilis* ВРТ-В1, В6у та *L. plantarum* КТ-Л18/1 депоновано у Депозитарії Державного науково-контрольного інституту біотехнології і штамів мікроорганізмів (м. Київ), вони мають відповідні охоронні документи [9–11].

Для отримання маточних культур *B. subtilis* ВРТ-В1 та В6у культивували на стандартних живильних середовищах — м'ясо-пептонному агарі (МПА) та м'ясо-пептонному бульйоні (МПБ) упродовж 24 годин за $37 \pm 0,5$ °С; *L. plantarum* КТ-Л18/1 та L-32 — на рідкому живильному середовищі де-Мана (MRS) [12] упродовж 7 діб у термостаті за $37 \pm 0,5$ °С. Маточні культури аеробних бактерій культивували на напівсинтетичному поживному середовищі [13] впродовж 24 годин за $37 \pm 0,5$ °С, а молочнокислих бактерій — на поживному середовищі, що містило 5 % пшеничних висівок, 2 % меляси та 0,5 % крейди [14]. Титр досліджуваних штамів мікроорганізмів становив $8\text{--}10 \times 10^9$ КУО в 1 мл суспензії.

Дослідження впливу пробіотичних штамів бактерій на аеробну стабільність ферментованого вологого зерна кукурудзи проводили в ПрАТ «Чернігівське головне підприємство по племінній справі у тваринництві» Чернігівської області. Для консервування у поліетиленових рукавах закладали 5 варіантів плющеного за допомогою установки «Мурска» вологого зерна кукурудзи по 40 т кожен:

- 1) абсолютний контроль (контроль 1) — без застосування мікроорганізмів;
- 2) позитивний контроль (контроль 2) — обробка біоконсервантом Субтіккон (виробник — Інститут сільськогосподарської мікробіології та агропромислового виробництва НААН);
- 3) інокуляція *B. subtilis* В6у;
- 4) сумісна інокуляція *L. plantarum* КТ-Л18/1 та *B. subtilis* ВРТ-В1;
- 5) сумісна інокуляція *B. subtilis* ВРТ-В1 та *L. plantarum* L32.

Штами молочнокислих бактерій поєднували зі штамами *B. subtilis* безпосередньо перед внесенням у корнаж у співвідношенні 5 : 1. Обробку зерна кукурудзи проводили з розрахунку 1 л бактеріальної суспензії на 4 т сировини, а біоконсервантом Субтіккон —

згідно з рекомендаціями (1 л консерванту на 10 т сировини).

Період ферментації плющеного вологого зерна кукурудзи тривав 70 діб. Проби плющеного зерна кукурудзи відбирали до початку закладання сировини, на першу та на 14-у добу після відкриття корму згідно з рекомендаціями для проведення органолептичних, зоотехнічних та мікробіологічних досліджень [15].

Органолептичну оцінку проб консервованої кукурудзи проводили за А. Н. Мухіним [16]. Визначення активної кислотності (рН) здійснювали шляхом потенціометричного вимірювання активності водневих іонів на рН-метрі (рН-150 МИ) [15]. Кількість вільних та зв'язаних органічних кислот визначали за методом Леппера-Фліга [15]. Вміст вологи, сирової клітковини, білка, жиру та золи досліджували за відповідними методиками.

Для мікробіологічного аналізу середні проби досліджуваного ферментованого зерна кукурудзи ретельно перемішували та готували однорідні суспензії на стерильній водопровідній воді. Чисельність мікроскопічних грибів та дріжджів визначали на середовищі Сабуро [17] шляхом культивування поверхневих посівів суспензій корму упродовж 3–4 діб (за необхідності — 7–8 діб) за температури $28 \pm 0,5^\circ\text{C}$. Чисельність клостридій встановлювали на залізо-сульфітному агарі [18] за кількістю чорних колоній, що виростили у глибині середовища упродовж 24 год. за $37 \pm 0,5^\circ\text{C}$. Загальну кількість мікроорганізмів у консервованому зерні визначали за культивування глибинних посівів суспензій корму упродовж 5–7 діб на середовищі МПА за температури $37 \pm 0,5^\circ\text{C}$. Чисельність молочнокислих бактерій установлювали на середовищі де-Мана (MRS) та капустаному агарі з крейдою, підраховуючи кількість колоній через 2–7 діб культивування за $37 \pm 0,5^\circ\text{C}$ [17].

Отримані результати статистично обробляли з використанням пакета прикладних програм Microsoft Office та представляли у вигляді середніх значень та їх похибок ($M \pm m$) [19].

Результати та їх обговорення. На 70-у добу ферментації плющеного зерна кукурудзи за органолептичним аналізом встановлено, що зразки корму всіх варіантів, як дослі-

дних так і контрольних, мали жовтий колір, приємний запах квашених яблук, збережену консистенцію (розсіпчасті сухуваті частинки плющеного зерна кукурудзи), без плісняви. Вміст сухої речовини у дослідних та контрольному варіантах коливався в межах від 66,8 % до 68,9 %. Відзначено збільшення збереженості сирової клітковини у дослідних варіантах 3 та 5 на 10,0 % та 3,3 % відповідно, якщо порівняти з позитивним контролем (варіант з обробкою зерна Субтіконом).

Вміст протеїну у дослідних варіантах та контролі 2 був вищим на 2,4–7,2 %, ніж у контролі 1. Найбільший вміст протеїну відзначено у варіантах плющеного зерна кукурудзи, де для обробки сировини використовували поєднання молочнокислих бактерій з *B. subtilis*.

Після аеробної експозиції отриманого корму впродовж 14 діб вміст сухої речовини у дослідних та контрольних варіантах суттєво не змінився та коливався в межах від 67,1 % до 68,9 %. Збереженість сирової клітковини за дії повітря протягом 14 діб в усіх варіантах почала знижуватися. Найбільші втрати (20 %) виявлено у контрольному варіанті № 1.

Найбільші втрати протеїну у кормі після аеробного впливу спостерігали у контролі 1 (3,8 %), а найменші — у дослідних варіантах 4 і 5, де використовували комплексну бактеризацію сировини (1,7; 1,3 % відповідно). Втрати жиру, якщо порівняти з даними, отриманими на 70-у добу консервування, у дослідних варіантах 4 і 5 становили 2,5–2,6 % проти 2,5 % у контролі 2. Важлива ознака якісного корму — кислотність, яка після аеробного впливу у варіантах з обробкою як дослідних, так і контрольних піднялася на 0,1, але залишалась в оптимальних межах рН 3,9–4,2. У контрольному варіанті № 1 (без бактеріальної обробки) цей показник зріс на 0,4 та становив рН 4,9 (табл. 1 і 2).

Проведені через 70 діб ферментації вологого зерна кукурудзи мікробіологічні дослідження свідчать про збільшення чисельності молочнокислих бактерій у зразках дослідних варіантів та в позитивному контролі на 2–3 порядки. У сировині абсолютного контролю цей показник зріс на порядок проти вихідних даних. У жодному зразку не виявлено маслянокислих бактерій та плісневих грибів (табл. 3).

Таблиця 1. Зоотехнічні показники консервованого плющеного зерна кукурудзи на 70-у добу ферментації за впливу інокуляції сировини молочнокислими бактеріями та *B. subtilis*, $M \pm m$

Варіанти дослідів	Показники									
	суха речовина (СР), г/кг	сира клітковина, г/кг СР	сирий протеїн, г/кг СР	жир, г/кг СР	зола, г/кг СР	БЕР, г/кг СР	кислотність	вміст кислот, %		
Вихідна сировина	804,0 ± 2,0	24,1 ± 0,9	96,5 ± 2,6	30,6 ± 1,6	7,2 ± 0,9	488,0 ± 7,1	н/д	н/д	н/д	
Контроль 1	695,0 ± 1,0	6,9 ± 0,7	74,4 ± 1,5	27,8 ± 0,7	7,7 ± 1,2	365,6 ± 3,7	4,5 ± 0,1	0	0,30 ± 0,05	
Контроль 2	686,0 ± 1,0	10,3 ± 0,7	93,9 ± 1,5	27,4 ± 0,8	7,6 ± 1,3	331,3 ± 4,3	4,0 ± 0,1	0	0,20 ± 0,06	
<i>B. subtilis</i> В6у	689,0 ± 2,0	12,4 ± 0,7	90,3 ± 0,9	26,9 ± 1,4	6,9 ± 0,7	338,3 ± 3,8	4,1 ± 0,1	0	0,10 ± 0,02	
<i>L. plantarum</i> КТ-Л18/1 + <i>B. subtilis</i> ВРТ-В1	681,0 ± 3,0	7,5 ± 0,7	121,9 ± 1,9	27,2 ± 0,8	6,8 ± 0,7	300,3 ± 4,1	3,8 ± 0,1	0	0,20 ± 0,03	
<i>L. plantarum</i> L32 + <i>B. subtilis</i> ВРТ-В1	668,0 ± 1,0	10,7 ± 1,1	106,2 ± 0,8	25,4 ± 0,7	8,0 ± 1,4	295,9 ± 4,2	4,0 ± 0,1	0	0,10 ± 0,02	

Примітка. н/д — не досліджували. Рівень вірогідності різниці з контролем — $P \leq 0,05$.

Таблиця 2. Зоотехнічні показники консервованого плющеного зерна кукурудзи після 14-добової аеробної експозиції корму, $M \pm m$

Варіанти дослідів	Показники									
	суха речовина (СР), г/кг	сира клітковина, г/кг СР	сирий протеїн, г/кг СР	жир, г/кг СР	зола, г/кг СР	БЕР, г/кг СР	кислотність	вміст кислот, %		
Вихідна сировина	804,0 ± 2,0	24,1 ± 0,9	96,5 ± 2,6	30,6 ± 1,6	7,2 ± 0,9	488,0 ± 7,1	н/д	н/д	н/д	
Контроль 1	700,0 ± 1,0	5,6 ± 1,1	72,1 ± 0,6	26,6 ± 1,3	7,0 ± 1,4	378,7 ± 7,0	4,9 ± 0,1	0	0,10 ± 0,03	
Контроль 2	688,0 ± 2,0	9,6 ± 0,8	92,2 ± 2,3	26,8 ± 0,8	6,9 ± 0,7	337,8 ± 6,1	4,1 ± 0,1	0	0,20 ± 0,02	
<i>B. subtilis</i> В6у	690, ± 1,0	11,7 ± 1,4	87,6 ± 1,3	25,5 ± 0,7	6,9 ± 0,7	344,3 ± 5,3	4,2 ± 0,1	0	0,20 ± 0,03	
<i>L. plantarum</i> КТ-Л18/1 + <i>B. subtilis</i> ВРТ-В1	682,0 ± 2,0	7,5 ± 0,7	120,0 ± 2,4	26,6 ± 1,4	6,1 ± 0,7	304,9 ± 5,3	3,9 ± 0,1	0	0,10 ± 0,02	
<i>L. plantarum</i> L32 + <i>B. subtilis</i> ВРТ-В1	671,0 ± 3,0	9,4 ± 1,4	105,3 ± 1,9	24,8 ± 0,8	7,4 ± 0,7	303,3 ± 4,0	4,1 ± 0,1	0	0,40 ± 0,02	

Примітка. н/д — не досліджували. Рівень вірогідності різниці з контролем — $P \leq 0,05$.

Після доступу повітря до консервованого плющеного зерна кукурудзи упродовж 14 діб чисельність молочнокислих бактерій зменшилась у всіх варіантах у середньому в 1,5 раза. Найменшу їх кількість спостерігали у контролі 1, найбільшу — у дослідному варіанті з сумісною інокуляцією плющеного зерна *L. plantarum* КТ-L18/1 та *B. subtilis* ВРТ-В1. Плісеневі гриби виявлено лише у контрольних варіантах (як у контролі 1, так і в контролі 2), де їх чисельність становила $5,7 \times 10^2$ та $2,9 \times 10^2$ КУО/г відповідно (максимально допустимий рівень контамінації мікроскопічними грибами — до 5×10^4 КУО в 1 г корму [20]).

Патогенних та маслянокислих бактерій у жодному варіанті консервованого плющеного зерна кукурудзи не виявлено (табл. 4).

Отже, якість ферментованого плющеного зерна кукурудзи за сумісної інтродукції штамів молочнокислих бактерій та *B. subtilis* була вищою за вмістом протеїну та суттєво не відрізнялася за іншими зоотехнічними показниками від варіантів з обробкою корму лише одним штамом бактерій виду *B. subtilis* (контрольний варіант 2 та дослідний 1). Сумісна обробка плющеного зерна кукурудзи штамами молочнокислих бактерій та *B. subtilis* позначилась також і на аеробній стабільності корму упродовж 14 діб доступу повітря у корнажну масу: втрата протеїну у цих варіантах була найменшою, в оптимальних межах (рН 3,9–4,1) зберігалася кислотність. Найкращі показники за якістю та аеробною стабільністю плющеного зерна кукурудзи виявлено у варіанті з сумісною обробкою сировини *L. plantarum* КТ-L18/1 та *B. subtilis* ВРТ-В1.

Ефективність дії за поєднання пробіотичних штамів *L. plantarum* КТ-L18/1 та *B. subtilis* ВРТ-В1 зумовлена, з одного боку, здатністю штаму молочнокислих бактерій до активного кислотоутворення, а з іншого — здатністю *B. subtilis* ВРТ-В1 активно гідролізувати крохмаль до мальтози з подальшою трансформацією її молочнокислими бактеріями до молочної кислоти. Крім того, ці пробіотичні штами володіють антагоністичною активністю до низки патогенних та гнильних мікроорганізмів. *B. subtilis* ВРТ-В1 має виразні антифунгальні властивості до мікроміцетів, які циркулюють у кукурудзяній масі, що надзвичайно важливо під час консервування

сировини, схильної до аеробного псування, якою є плющене зерно кукурудзи [11–13].

Висновки. Головна мета застосування консервантів — зберегти поживні речовини та енергетичну цінність корму з показниками, максимально наближеними до вихідної сировини. Сумісне застосування пробіотичних штамів молочнокислих бактерій та *B. subtilis* для консервування зерна кукурудзи є ефективним та сприяє збереженості поживних речовин, встановленню та підтриманню оптимального рівня кислотності, запобігає аеробному псуванню корму за рахунок пригнічення розвитку мікроміцетів, гнильних мікроорганізмів, надає корму пробіотичних властивостей.

ЦИТОВАНА ЛІТЕРАТУРА

1. Gharechahi J., Kharazian Z. A., Sarikhan S., Jouzani G. S., Aghdasi M., Salekdeh G. H. The dynamics of the bacterial communities developed in maize silage. *Microb Biotechnol.* 2017. Vol. 10, № 6. P. 1663–1676. <https://doi.org/10.1111/1751-7915.12751>
2. Brüning D., Gerlach K., Weiss K., Südekum K.-H. Effect of compaction, delayed sealing and aerobic exposure on maize silage quality and on formation of volatile organic compounds. *Grass and Forage Science.* 2017. № 73. P. 53–66. <https://doi.org/10.1111/gfs.12288>
3. Шурхно Р. А., Сироткин А. С. Свойства штаммов молочнокислых бактерий, используемых для ферментации высокобелковой растительной массы. *Вестник Казанского технологического университета.* 2015. № 10. С. 227–232.
4. Кравченко Н. О., Чумаченко С. П., Передерій М. Г. Консервуюча здатність *Bacillus subtilis* при заготівлі плющеного вологого зерна кукурудзи. *Сільськогосподарська мікробіологія.* 2017. Вип. 25. С. 57–62.
5. Победнов Ю. А., Мамаев А. А. Эффективность применения бактерий вида *Bacillus subtilis* при силосовании и сенажировании трав. *Ветеринарная патология.* 2005. № 1. С. 90–96.
6. Кравченко Н. О., Передерій М. Г. Антагоністична активність штамів бактерій *Bacillus subtilis*, перспективних для створення консервантів вологого зерна плющеної кукурудзи. *Сільськогосподарська мікробіологія.* 2017. Вип. 26. С. 49–54.
7. Максимова Х. И. Силосование кормовых культур с использованием биопрепаратов. *Московский экономический журнал Сельскохозяйственные науки.* 2019. № 3. С. 331–337.
8. Jatkauskas J., Vrotniakienė V., Ohlsson Ch., Lund B. The effects of three silage inoculants on

Таблиця 3. Мікробіологічні показники консервованого пшоченого зерна кукурудзи на 70-у добу ферментації за впливу молочнокислих бактерій та *B. subtilis*, $M \pm m$

Варіанти досліду	Загальна чисельність мікроорганізмів, КУО/г	Молочнокислі бактерії, КУО/г	Мікроміцети, КУО/г	<i>E. coli</i> , КУО/г	<i>Salmonella spp.</i> , КУО/г	клостридії, КУО/г
Вихідна сировина	$1,9 \pm 0,3 \times 10^6$	$7,50 \pm 0,40 \times 10^6$	$2,50 \pm 0,03 \times 10^3$	0	0	0
Контроль 1	$7,0 \pm 0,2 \times 10^6$	$0,010 \pm 0,002 \times 10^9$	0	0	0	0
Контроль 2	$4,6 \pm 0,3 \times 10^6$	$0,50 \pm 0,03 \times 10^9$	0	0	0	0
<i>B. subtilis</i> В6у	$2,8 \pm 0,3 \times 10^6$	$0,30 \pm 0,02 \times 10^9$	0	0	0	0
<i>L. plantarum</i> КТ-L18/1 + <i>B. subtilis</i> ВРТ-В1	$2,8 \pm 0,4 \times 10^6$	$1,00 \pm 0,02 \times 10^9$	0	0	0	0
<i>L. plantarum</i> L32 + <i>B. subtilis</i> ВРТ-В1	$3,0 \pm 0,2 \times 10^6$	$0,50 \pm 0,03 \times 10^9$	0	0	0	0

Примітка. Рівень вірогідності різниці з контролем — $P \leq 0,05$.

Таблиця 4. Мікробіологічні показники консервованого пшоченого зерна кукурудзи після 14-добової аеробної експозиції корму, $M \pm m$

Варіанти досліду	Загальна чисельність мікроорганізмів, КУО/г	Молочнокислі бактерії, КУО/г	Мікроміцети, КУО/г	<i>E. coli</i> , КУО/г	<i>Salmonella spp.</i> , КУО/г	клостридії, КУО/г
Вихідна сировина	$1,9 \pm 0,3 \times 10^6$	$7,5 \pm 0,4 \times 10^6$	$2,5 \pm 0,03 \times 10^3$	0	0	0
Контроль 1	$12,3 \pm 0,4 \times 10^6$	$0,080 \pm 0,003 \times 10^8$	$5,7 \pm 0,3 \times 10^2$	0	0	0
Контроль 2	$4,3 \pm 0,2 \times 10^6$	$2,9 \pm 0,5 \times 10^8$	$2,9 \pm 0,2 \times 10^2$	0	0	0
<i>B. subtilis</i> В6у	$2,9 \pm 0,3 \times 10^6$	$2,8 \pm 0,4 \times 10^8$	0	0	0	0
<i>L. plantarum</i> КТ-L18/1 + <i>B. subtilis</i> ВРТ-В1	$5,3 \pm 0,4 \times 10^6$	$4,3 \pm 0,5 \times 10^8$	0	0	0	0
<i>L. plantarum</i> L32 + <i>B. subtilis</i> ВРТ-В1	$7,1 \pm 0,3 \times 10^6$	$2,7 \pm 0,3 \times 10^8$	0	0	0	0

Примітка. Рівень вірогідності різниці з контролем — $P \leq 0,05$.

aerobic stability in grass, clover-grass, lucerne and maize silages. *Agricultural and food science*. 2013. № 22. С. 137–144.

9. Штам бактерій *Bacillus subtilis* для виготовлення пробіотичних препаратів для тварин та мікробних препаратів для кормовиробництва: пат. 116292 Україна. МПК С12N1/20, С12R1/125, Н. О. Кравченко, О. М. Дмитрук, В. О. Агеєв, Л. В. Божок; заявник і патентовласник: Інститут сільськогосподарської мікробіології та агропромислового виробництва НААН. № a201606595; заявл. 16.06.2016; опубл. 26.02.2018, Бюл. № 4.

10. Штам бактерій *Lactobacillus plantarum* для виготовлення пробіотичних препаратів та мікробних консервантів для кормовиробництва: пат. 115938 Україна. МПК С12N1/20, А61К35/744, Н. О. Кравченко, О. М. Дмитрук, В. О. Агеєв, Л. В. Божок; заявник і патентовласник: Інститут сільськогосподарської мікробіології та агропромислового виробництва НААН. № a201606596; заявл. 16.06.2016; опубл. 10.01.2018, Бюл. № 1.

11. Штам бактерій *Bacillus subtilis* для виготовлення пробіотичних препаратів для тварин та мікробних консервантів для кормовиробництва: пат. 116291 Україна. МПК С12R1/125, С12N1/20, Н. О. Кравченко, О. М. Дмитрук, О. В. Агеєв, Л. В. Божок; заявник і патентовласник: Інститут сільськогосподарської мікробіології та агропромислового виробництва НААН. № a201606591; заявл. 16.06.2016; опубл. 26.02.2018, Бюл. № 4.

12. de Mann J. C., Rogosa M., Sharpe M. E. A medium for the cultivation of lactobacilli. *J. Appl. bacteriology*. 1960. 23. P. 130–135. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.1960.tb00188.x>

13. Спосіб виготовлення пробіотичного препарату бацилярного субтилісу: пат. 66420 Україна. МПК А61К35/66, С. В. Дерев'янка, Г. М. Дяченко, Л. В. Божок, В. О. Агеєв, О. І. Прокопенко; заявник і патентовласник: Інститут сільськогосподарської мікробіології та агропромислового

виробництва НААН. u201101195; заявл. 03.02.2011; опубл. 10.01.2012, Бюл. № 1.

14. Оследкин Ю. С., Васин А. Д., Шушунова А. В. Закваска для силосования кормов. *Ветеринария*. 1981. № 9. С. 65–66.

15. Петухова Е. А., Бессарабова Р. Ф., Халенева Л. Д., Антонова О. А. Зоотехнический анализ кормов. М. : Агропромиздат, 1989. 239 с.

16. Бойко І. Г., Петруша Є. З., Нагорний С. А. Визначення якості кормів: Методичні рекомендації до виконання лабораторних робіт по дисципліні «Технологія виробництва продукції тваринництва» для студентів очної та заочної форми навчання. Х. : Харківський національний технічний університет сільського господарства імені Петра Василенка, 2013. 18 с.

17. Соляник Т. В., Гласкович М. А. Мікробіологія. Мікробіологія кормов животного і рослинного походження. Горки : БГСХА, 2014. 76 с.

18. Wilson W. J., Blair E. M. Correlation of the sulphite reduction test with other tests in the bacteriological examination of water. *Journal of Hygiene*, 1925. Vol. 24, № 2. P. 111–119.

19. Коросов А. В. Горбач В. В. Компьютерная обработка биологических данных. Петрозаводск : ПетрГУ, 2016. 96 с.

20. Наказ Міністерства аграрної політики та продовольства України 19.03.2012 № 131 (у редакції наказу Міністерства аграрної політики та продовольства України від 11.10.2017 № 550) Про затвердження Переліку максимально допустимих рівнів небажаних речовин у кормах та кормовій сировині для тварин (Із змінами, внесеними згідно з Наказом Міністерства економічного розвитку і торгівлі N 550 від 11.10.2017). *Офіційний вісник України*. 2012, № 29 (23 квітня). 86 с. Режим доступу: <http://zakon.rada.gov.ua/laws/show/z0503-12/print>

Отримано 14.05.2019

QUALITY AND AEROBIC STABILITY OF FERMENTED ROLLED CORN GRAIN IN UNDER COMBINED INTRODUCTION OF PROBIOTIC STRAINS OF LACTIC ACID BACTERIA AND REPRESENTATIVES OF *BACILLUS SUBTILIS*

M. G. Perederii, N. O. Kravchenko, L. V. Bozhok, O. M. Dmytruk

Institute of Agricultural Microbiology and Agroindustrial Manufacture, NAAS, Chernihiv
e-mail: mashaperederii@ukr.net

Objective. To find out the effect of combined introduction of probiotic strains of lactic acid bacteria and *Bacillus subtilis* on the quality and aerobic stability of fermented rolled corn grain. **Methods.** Microbiological, zootechnical. **Results.** According to the results of organoleptic analysis, preserved rolled corn grain of the experimental and control variants had a preserved texture with a pleasant fruity odour. Preservation of crude fibre in the raw material of the experimental variants treated with *Bacillus subtilis* BPT-B1 and under the combined use of lactic acid bacteria with aerobic bacilli was higher by 10.0 % and 3.3 %, respectively, as compared to positive control parameters (Subtikon grain processing). The protein content in the experimental variants and the positive control was higher by 2.4–7.2 % than in the control variant of the feed (without the use of microorganisms). After aerobic exposure of feed for 14 days, preservation of crude fibre in all variants began to decrease, however, the greatest losses (20 %) were noted in the control variant (without introduction of bacteria). The highest protein losses were observed in the control variant (3.8 %). After aerobic exposure, acidity in all variants of the experiment remained in the optimal range of pH 3.9–4.2. At day 70 of feed preservation, an increase in the number of lactic acid bacteria by 2–3 orders of magnitude in samples of experimental variants and positive control in comparison with this parameter in the raw material was noted. After air access to preserved rolled corn grain for 14 days, the lowest number of lactic acid bacteria was observed in absolute control, the highest — in the variant with the combined inoculation by strains of *Lactobacillus plantarum* KT-L18/1 and *Bacillus subtilis* BPT-B1. No pathogenic and butyric acid bacteria were detected. **Conclusion.** The combined use of probiotic strains of lactic acid bacteria and *Bacillus subtilis* to preserve corn grain contributes to the preservation of nutrients, the establishment and maintenance of an optimal level of acidity, prevents aerobic food spoilage.

Key words: rolled corn grain, biological preservatives, probiotic bacteria, aerobic stability, preservation.

REFERENCES

1. Gharechahi, J., Kharazian, Z. A., Sarikhan, S., Jouzani, G. S., Aghdasi, M., & Salekdeh, G. H. (2017). The dynamics of the bacterial communities developed in maize silage. *Microb Biotechnol*, 10(6), 1663–1676. <https://doi.org/10.1111/1751-7915.12751>
2. Brüning, D., Gerlach, K., Weiss, K., & Südekum, K.-H. (2017). Effect of compaction, delayed sealing and aerobic exposure on maize silage quality and on formation of volatile organic compounds. *Grass and Forage Science*, 73, 53–66. <https://doi.org/10.1111/gfs.12288>
3. Shurhno, R. A., & Sirotkin, A. S. (2015). Svojstva shtammov molochnokislyh bakterij, ispol'zuemyh dlja fermentacii vysokobelkovoj ras-titel'noj massy [Properties of strains of lactic acid bacteria used for the fermentation of high-protein plant mass]. *Vestnik Kazanskogo tehnologicheskogo universiteta*, 10(18), 227–232 [in Russian].
4. Kravchenko, N. O., Chumachenko, S. P., & Perederij, M. G. (2017). Konservujucha zdatnist' Bacillus subtilis pry zagotivli pljushhennogo vologogo zerna kukurudzy [Preserving ability of *Bacillus subtilis* during gathering of flattened moist corn grain]. *Silskogospodarska mikrobiologia*, 57–62 [in Ukrainian].
5. Pobednov, Ju. A., & Mamaev, A. A. (2005). Jeffektivnost' primenenija bakterij vida Bacillus subtilis pri silosovanii i senazhironanii travu. [The effectiveness of the use of bacteria of the species *Bacillus subtilis* in ensiling and grass haying]. *Veterinarnaja patologija — Veterinary Pathology*, 1,

90–96 [in Russian].

6. Kravchenko, N. O., & Perederij, M. G. (2017). Antagonistychna aktyvnist' shtamiv bakterij *Bacillus subtilis*, perspektyvnyh dlja stvorennya konservantiv vologogo zerna pljushhenoi' kukurudzj [Antagonistic activity of *Bacillus subtilis* strains, perspective components for creation of rolled high-moisture corn preservatives]. *Silskogospodarska mikrobiologia*, 26, 49–54 [in Ukrainian].

7. Maksimova, Kh. I. (2019). Silosovanie kormovyh kul'tur s ispol'zovaniem biopreparatov [Ensilage of feeding crops with the biopreparations application]. *Moskovskij jekonomicheskij zhurnal Sel'skohozjajstvennye nauki — Moscow journal Agricultural science*, 3, 331–337 [in Russian].

8. Jatkauskas, J., Vrotniakienė, V., Ohlsson, Ch., & Lund, B. (2013). The effects of three silage inoculants on aerobic stability in grass, clover-grass, lucerne and maize silages. *Agricultural and food science*, 22, 137–144. <https://doi.org/10.23986/afsci.6698>

9. Pat. 116292 UA, MPK C12N1/20, C12R1/125. Strain of bacteria *Bacillus subtilis* for the manufacture of probiotic preparations for animals and microbial preparations for fodder production, Kravchenko, N. O., Dmytruk, O. M., Aheiev, V. O., Bozhok, L. V., Publ. 26.02.2018 [in Ukrainian].

10. Pat. 115938 UA, MPK C12N1/20, A61K 35/744. Strain of bacteria *Lactobacillus plantarum* for the manufacture of biotic drugs and microbial preservatives for feed digestion, Kravchenko, N. O., Dmytruk, O. M., Aheiev, V. O., Bozhok, L. V., Publ.10.01.2018 [in Ukrainian].

11. Pat. 116291 UA, MPK C12R1/125, C12N1/20. Strain of bacteria *Bacillus subtilis* for the manufacture of probiotic preparations for animals and microbial preparations for fodder production, Kravchenko, N. O., Dmytruk, O. M., Aheiev, V. O., Bozhok, L. V., Publ. 26.02.2018 [in Ukrainian].

12. de Mann, J. C., Rogosa, M., & Sharpe, M. E. (1960). A medium for the cultivation of lactobacilli. *J. Appl. bacteriology*. 23(1), 130–135. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.1960.tb00188.x>.

13. Pat. 66420 UA, MPK A61K35/66. Method of manufacturing probiotic preparation of bacillus subtilis, Derevianko, S. V., Dyachenko, A. M., Bozhok, L. V., Aheiev, V. O., Prokopenko, O. I., Publ. 10.01.2012 [in Ukrainian].

14. Osledkin, Ju. S., Vasin, A. D., & Shushunova, A. V. (1981). Zakvaska dlja silosovaniya kormov [Sourdough silage feed]. *Veterinarija — Veterinary*, 9, 65–66. [in Russian].

15. Petuhova, E. A., Bessarabova, R. F., Hale-neva, L. D., & Antonova, O. A. (1989). *Zootehnycheskij analiz kormov* [Zootechnical analysis of feeds]. Moskva: Agropromyzzdat [in Russian].

16. Boyko, I. G., Petrusha, E. Z., & Nagorny, S. A. (2013). *Vyznachennja jakosti kormiv: metodychni rekomendacii'* [Determination of the quality of feed: methodical recommendations]. Kharkiv: Kharkiv National Technical University of Agriculture named after Petr Vasilenko [in Ukrainian].

17. Soljanyk, T. V., & Glaskovych, M. A. (2014). *Mykrobiologija. Mykrobiologija kormov zhyvotnogo y rastytel'nogo proyshozhdenija* [Microbiology. Microbiology of animal and plant feed]. Gorky : BGSHA [in Russian].

18. Wilson, W.J., & Blair, E.M. (1925). Correlation of the sulphite reduction test with other tests in the bacteriological examination of water. *Journal of Hygiene*, 24(2), 111–119.

19. Korosov, A. V., & Gorbach, V. V. (2016). *Komp'juternaja obrabotka byologicheskijh dannjah* [Computer processing of biological data] (pp. 96). *Petrozavodsk: PetrGU* [in Russian].

20. Nakaz Ministerstva agrarnoi' polityky ta prodovol'stva Ukrai'ny 19.03.2012 № 131 (u redakcii' nakazu Ministerstva agrarnoi' polityky ta prodovol'stva Ukrai'ny vid 11.10.2017 № 550) Pro zatverdzhennja Pereliku maksimal'no dopustymykh rivniv nebazhanykh rehovyn u kormah ta kormovij syrovyni dlja tvaryn (Iz zminamy, vnesenymy zgidno z Nakazom Ministerstva ekonomichnogo rozvytku i torgivli N 550 vid 11.10.2017) [Order of the Ministry of Agrarian Policy and Food of Ukraine of 19.03.2012 № 131 (as amended by the order of the Ministry of Agrarian Policy and Food of Ukraine dated 11.10.2017, No. 550) On Approval of the List of Maximum Permissible Levels of Unwanted Substances in Forages and Forage For Animals (As amended by with the Order of the Ministry of Economic Development and Trade No. 550 dated 11.10.2017)]. (2012, 23 April). (n.d.) *zakon.rada.gov.ua*. Retrieved from <http://zakon.rada.gov.ua/laws/show/z0503-12/print> [in Ukrainian].

Received 14.05.2019