

ЗАТВЕРДЖЕНО
Наказ Міністерства освіти і науки,
молоді та спорту України
29 березня 2012 року №384

Форма № Н-9.02

**Львівський національний університет ветеринарної медицини
та біотехнологій імені С.З. Гжицького**

Факультет харчових технологій та біотехнологій

(повна назва факультету)

Кафедра біотехнологій та радіології

(повна назва кафедри)

ДИПЛОМНА РОБОТА

за ОС «Магістр»

**на тему: “Інноваційний підхід до виробництва та використання
пробіотичних препаратів як альтернатива кормовим
антибіотикам”**

Виконала: студентка 2__курсу, групи __1__
спеціальності

162 «Біотехнологія та біоінженерія»

Зозуля О.М.

(прізвище та ініціали)

Керівник д.с.-н., професор **Буцяк В.І.**

(прізвище та ініціали)

Рецензент **доц. Періг Д.П.**

(прізвище та ініціали)

Робота заслухана на засіданні кафедри біотехнологій та радіології і
рекомендована до захисту в ДЕК, протокол № __ від __ грудня 2023 р.

Завідувач кафедри біотехнологій та радіології,
професор, доктор с.-г. наук

Василь БУЦЯК

Львів – 2023

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ	3
АНОТАЦІЯ	4
ВСТУП	8
РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ	10
1.1. Характеристика пробіотиків як альтернатива кормовим антибіотикам	10
1.2. Використання пробіотиків у живленні сільськогосподарських тварин	13
1.3. Перспективи використання пробіотиків у живленні сільськогосподарських тварин	19
1.3.1. Сильні та слабкі сторони використання пробіотиків як альтернативи кормовим антибіотикам	25
РОЗДІЛ 2. УМОВИ ТА МЕТОДИКА ПРОВЕДЕННЯ ДОСЛІДЖЕНЬ	28
2.1. Біотехнологія одержання мікробних препаратів – пробіотиків та критерії підбору штамів мікроорганізмів	28
2.2. Матеріал і методи дослідження	36
РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ	39
3.1. Особливості одержання пробіотичної кормової добавки за сумісного культивування лакто- та біфідобактерій	39
3.2. Одержання пробіотичних добавок кормового призначення	46
3.3. Апробація пробіотичної кормової добавки на курчатах-бройлерах	53
ВИСНОВКИ І ПРОПОЗИЦІЇ	58
СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ	59
ДОДАТКИ	66

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

АлАТ – аланінамінотрансфераза;

АсАТ – аспартатамінотрансфераза;

ЛЖК – леткі жирні кислоти;

КУО – колонієутворюючі організми;

МПа – мегапаскаль;

⁰Т – кислотність у градусах Тенера;

АНОТАЦІЯ

Робота написана на 71 сторінках комп'ютерного тексту. Складається із вступу, трьох розділів (огляду літератури, умов та методики проведення досліджень, результатів досліджень), висновків та пропозицій, списку використаної літератури та додатків. Містить 23 рисунки, 8 таблиць, 50 джерел використаної літератури.

Ключові слова: *слова:* пробіотики, пребіотики, симбіотики, аерококи, чисті культури, технологія одержання кормових пробіотичних препаратів, поживне середовище, критерії підбору штамів мікроорганізмів, антагонізм, антибіотики, живлення, сільськогосподарські тварини.

Важливим напрямом щодо реалізації програми забезпечення населення повноцінними продуктами харчування, в тому числі білком, є інтенсифікація тваринницької галузі, зокрема птиківництва, щодо підвищення продуктивності останніх. Одним із таких напрямків є нормування раціонів живлення біологічно активними речовинами, такими як пробіотиками.

Для таких потреб використовують кормові пробіотичні добавки, у складі яких є живі популяції мікроорганізмів, з де більшого штамів лакто- та біфідобактерій. Дані штами мікроорганізмів сприятливо впливають на біоценоз кишечника організму господаря, стимулюючи метаболічні процеси, вони також володіють абіотичними (антимікробними) та стимулюють імунну систему організму.

За умов експериментальних досліджень була встановлена доцільність оптимізувати окремі ланки технологічного процесу сумісного культивування штамів лакто- та біфідобактерій на казеїново-дріжджовому базовому поживному середовищі, яке володіє стимуляторами проліферації клітин, що

забезпечує зростання активного кислотоутворення та біомаси живих мікроорганізмів, з метою одержання кормової пробіотичної добавки зі поліфункціональними властивостями.

Із одержаних даних в процесі дослідження встановлено, що використана пробіотична кормова добавка у дозі 0,4 г/кг до базового корму, за наших умов експерименту, є найбільш ефективна та економічно доцільна. Середньодобовий приріст складав 56,7 г, що на 2,9 г перевищував курчат контрольної групи, з витратами кормів на 1 кг приросту на 0,13 кг менше за контроль та 99% збереження курчат.

Об'єкт дослідження: штами лакто- та біфідобактерій як продуценти пробіотичної кормової добавки, курчата-бройлери.

Предмет дослідження: оптимізація технологічного процесу одержання поліфункціонального кормового пробіотичного препарату.

Мета: створення та використання раціональних та економічно обґрунтованих технологій виробництва кормових препаратів на основі живих культур мікроорганізмів та їх ефективність у живленні птиці.

Для досягнення поставленої мети вирішувались такі завдання:

- проаналізувати доступну літературу та інтернет ресурси щодо удосконалення сучасних технологій виробництва кормових препаратів на основі пробіотиків;
- охарактеризувати технологію отримання комплексного препарату, який містить різні штами пробіотичних культур, їх механізм дії та профілактичне і лікувальне значення;

- технологічні аспекти сумісного використання штамів лакто- та біфідобактерій з метою одержання кормової пробіотичної добавки з поліфункціональними властивостями;
- дослідити антагоністичну активність одержаного пробіотичного кормового препарату на умовно патогенні тест-культури;
- визначити фізіологічну, морфо-біохімічну та економічну ефективність кормової добавки, збагаченої штамми пробіотичних культур у живленні птиці.

Актуальність теми. Удосконалення окремих ланок технологічного процесу виробництва кормових пробіотичних препаратів, а особливо ці інновації запроваджувати в серійне виробництво на сьогоднішній час є особливо актуальним. Актуальність полягає на сам перед в тому, що збільшення використання, особливо поліфункціональних кормових пробіотичних препаратів, дає змогу з одного боку підвищити біохімічні процеси метаболізму та кращого засвоєння поживних речовин корму, а з другого боку проявляє антимікробну властивість та підвищує імунітет організму в цілому.

Кормові пробіотичні препарати, які володіють антимікробною дією можна використовувати з метою профілактики або часткового лікування тварин. Це дає змогу повністю виключити антибіотики з метою профілактики або часткового – з метою лікування. Як відомо, антибіотики повністю не метаболізуються та не виводяться з організму тварин і можуть трофічним ланцюгом надходити в організм людини та забезпечувати резистентність бактеріальних популяцій до того чи іншого антибіотику.

Тому важливо, щоб з метою профілактики тварин та птиці не використовувати антибіотики, а пробіотичні поліфункціональні препарати, які в кінцевому результаті, безпечні у використанні як для тварин, так й для людини як кінцевого споживача.

Практична цінність роботи. Використаний кормовий пробіотичний препарат у дозі 0,4 г/кг до базового корму володіє високою біологічною активністю, що стимулює метаболічні процеси в організмі птиці, які сприяють підвищенню їх продуктивних якостей. Крім того, дана добавка володіє абіотичним та імуностимулюючим впливом, забезпечуючи профілактично-лікувальний ефект, про що вказує найвищий відсоток (99%) збереження курчат-бройлерів.

Науковий внесок роботи. На основі експериментальних досліджень доведена необхідність удосконалення існуючих технологій виробництва кормових пробіотичних добавок. Розроблена технологія сумісного культивування лакто- та біфідобактерій на казеїново-дріжджовому базовому поживному середовищі за регламентованих умов культивування.

ВСТУП

Пробіотики – це живі мікроорганізми, які, споживаючи їх у великих кількостях, можуть мати корисний вплив на здоров'я людини чи тварини. Ці мікроорганізми часто асоціюються з бактеріями, і більшість пробіотиків є бактеріями, але деякі з них також можуть бути грибами або іншими видами мікроорганізмів [1].

Пробіотики зазвичай сприяють підтримці рівноваги мікрофлори кишечника і можуть мати численні корисні ефекти на здоров'я людей та тварин, включаючи [1]:

1. Підтримка здоров'я кишечника: Пробіотики, в процесі життєдіяльності, а саме за рахунок кінцевих продуктів метаболізму, можуть допомагати підтримувати рівновагу між корисними і шкідливими бактеріями в кишечнику, що сприяє здоровому функціонуванню шлунково-кишкового тракту.

2. Підвищення імунітету: Деякі пробіотики можуть проявляти імуностимулюючий вплив на організм, покращуючи функцію імунної системи і допомагати організму боротися з інфекціями та захищати його від захворювань.

3. Підтримка здоров'я шкіри: Пробіотики можуть проявляти позитивний вплив на стан шкіри, зменшуючи запалення, покращувати вигляд, відновлюючи її.

4. Покращення травлення: Деякі пробіотики допомагають, активують ферментні системи організму розщеплювати основні компоненти їжі (білки, жири та вуглеводи) та покращують всмоктування корисних поживних речовин.

Інноваційний підхід до виробництва та використання пробіотичних препаратів як альтернатива кормовим антибіотикам передбачає розробку та впровадження пробіотиків у годівлю тварин. Це має на меті замінити антибіотики, які традиційно використовуються для покращення здоров'я та

продуктивності тварин, але можуть призводити до проблем із резистентністю до антибіотиків та іншими побічними ефектами [2].

Інновації у виробництві пробіотиків також можуть включати розробку спеціалізованих штамів мікроорганізмів, які оптимізовані для конкретних видів тварин або певних умов годівлі, а також технології для підвищення стабільності та ефективності пробіотичних продуктів.

РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

1.1. Характеристика пробіотиків як альтернатива кормовим антибіотикам

Пробіотики і кормові антибіотики – це два різних підходи до покращення здоров'я тварин у сільському господарстві, особливо в тваринницькій галузі.

Вони мають різні цілі та механізми дії [3-4]:

1. Пробіотики: Пробіотики - це живі мікроорганізми, такі як корисні бактерії або гриби, які сприяють покращенню здоров'я шлунково-кишкової системи тварин. Вони можуть допомагати в підтримці здорової мікрофлори кишечника та зменшувати ризик захворювань шляхом конкуренції зі шкідливими мікроорганізмами. Пробіотики можуть бути включені до раціону тварин для підвищення продуктивності та загального здоров'я.

2. Кормові антибіотики: Кормові антибіотики - це антибіотики, які додаються до раціону тварин для підвищення їхньої продуктивності та попередження або лікування інфекційних захворювань. Вони можуть допомагати контролювати розповсюдження інфекцій в господарствах та збільшувати надходження продуктів тваринництва.

Однак за вживанням антибіотиків у тваринах може виникати проблема резистентності до антибіотиків, яка може впливати на загальне здоров'я та лікування інфекцій у людей [5].

У багатьох країнах були введені обмеження та регулювання щодо використання кормових антибіотиків у тваринах через ризик розповсюдження резистентності до антибіотиків та інші потенційні проблеми.

Пробіотики, у порівнянні з антибіотиками, менш схильні спричиняти резистентність до антибіотиків та можуть бути розглянуті як одна з альтернативних стратегій для покращення здоров'я тварин у сільському

господарстві. Однак важливо враховувати, що ефективність пробіотиків може залежати від конкретного виду тварин і умов їх утримання.

Використання антибіотиків у тваринництві є актуальною та складною проблемою, яка має великі наслідки для здоров'я тварин, людей та довкілля. Нижче розглянуті основні аспекти цієї проблеми [9]:

1. **Захворюваність та профілактика:** У тваринництві антибіотики використовуються для лікування та профілактики захворювань. Однак їх використання може призвести до розвитку резистентності бактерій до цих ліків, що ускладнює лікування та профілактику захворювань у тварин.

2. **Ризик для громадського здоров'я:** Резистентність до антибіотиків у тваринах може передаватися людині через споживання м'яса та інших продуктів тваринного походження. Це створює загрозу для громадського здоров'я, оскільки може призвести до невибіркової резистентності до антибіотиків у людей.

3. **Екологічний вплив:** Використання антибіотиків в тваринництві може мати негативний вплив на довкілля. Вони можуть потрапляти до ґрунту та водних джерел через відходи тварин та можуть сприяти розвитку резистентності серед мікроорганізмів у природних середовищах.

4. **Збільшення витрат на охорону здоров'я:** Зростання резистентності до антибіотиків може призвести до збільшення витрат на охорону здоров'я через ускладнення лікування інфекцій та потребу у більш потужних лікарських засобах.

У зв'язку з цим виникає необхідність знаходити альтернативні методи контролю за захворюваннями та підвищення продуктивності тварин, що б не призводили до розвитку резистентності до антибіотиків. Однією з таких альтернатив є використання пробіотиків, які можуть бути безпечним та ефективним засобом для збереження здоров'я тварин та зменшення використання антибіотиків [10].

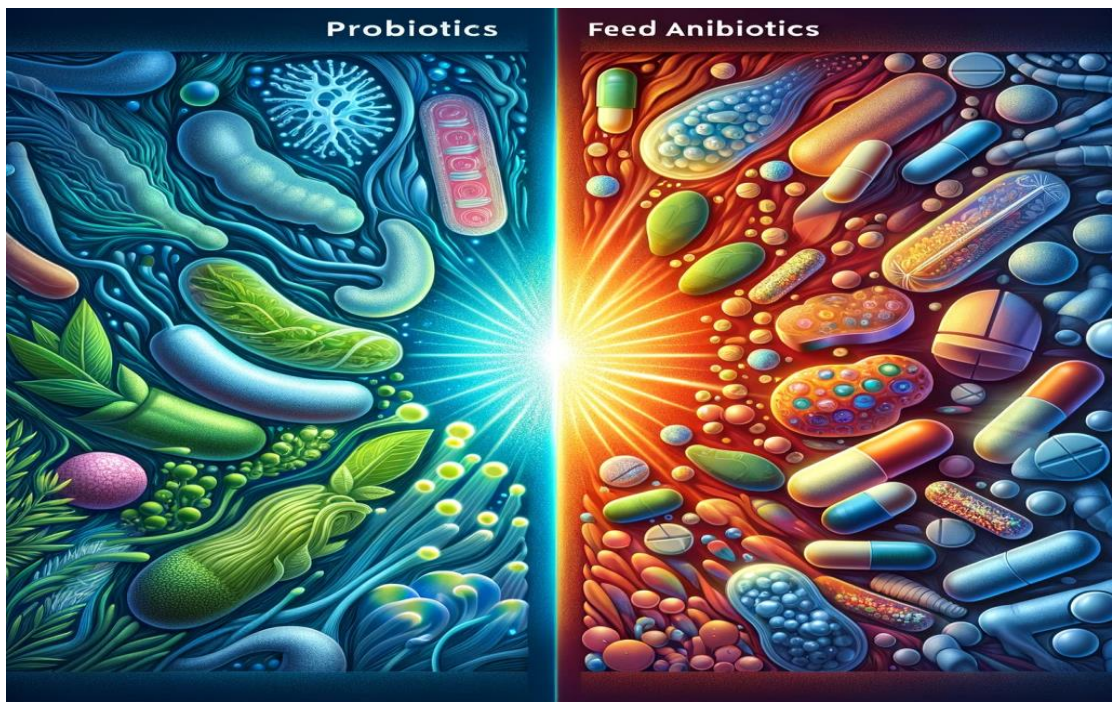


Рис. 1.1. Ілюстрація контрасту між пробіотиками та кормовими антибіотиками на клітинному рівні

На рис.1.1 наведена ілюстрація, що зображує контраст між пробіотиками та кормовими антибіотиками. Ліва сторона зображення представляє пробіотики з яскравими та здоровими візуальними елементами, тоді як права сторона показує кормові антибіотики з холоднішим і більш синтетичним виглядом. Цей контраст має на меті візуально пояснити їх різні ролі та впливи.

1.2. Використання пробіотиків у живленні сільськогосподарських тварин

Аналіз існуючих досліджень та публікацій, що стосуються використання пробіотиків у годівлі тварин у порівнянні з традиційними кормовими антибіотиками, підкреслює наступні аспекти [10-13]:

1. Антибіотики та Їхні Обмеження: Антибіотики традиційно використовувалися у кормах для тварин для сприяння росту та профілактики захворювань. Однак їх тривале використання призводить до розвитку стійкості бактерій до антибіотиків і накопичення залишків антибіотиків у продуктах тваринництва, що змушує шукати ефективні альтернативи, такі як пробіотики.

2. Пробіотики як Альтернативи: Пробіотики — це живі мікроорганізми, що надають корисний вплив, включаючи боротьбу з патогенними бактеріями, покращення імунної системи та відновлення мікробного балансу в кишечнику. Вони розглядаються як потенційні засоби для підвищення продуктивності у важливих секторах харчування, таких як птахівництво, вирощування копитних та аквакультура.

3. Механізм Дії: Пробіотики діють через різні механізми, включаючи інгібування адгезії патогенів, виробництво антимікробних компонентів, конкурентне виключення патогенних мікроорганізмів, підвищення бар'єрної функції, зниження рН у просвіті кишечника та модуляцію імунної системи.

4. Види Пробіотиків: Найбільш поширені пробіотики, які використовуються в кормах для тварин, включають *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Lactococcus*, *Bacillus*, *Streptococcus* та різні дріжджі.

5. Вплив на Імунітет та Травлення: Пробіотики покращують імунітет господаря, модулюючи імунну систему. Вони грають важливу роль у стимулюванні слизової імунної системи та покращують травлення у

тварин, підвищуючи засвоєння поживних речовин та загальний приріст маси тіла.

6. Порівняння з Антибіотиками у Птахівництві: Дослідження, що порівнювало вплив антибіотиків та пробіотиків на бройлерів, показало, що лікування пробіотиками, пребіотиками та синбіотиками значно збільшує приріст маси порівняно з антибіотиками. Синбіотичне лікування знижувало коефіцієнт конверсії корму і мало позитивний вплив на здоров'я та мікробіоту кишечника птахів, що свідчить про значні переваги використання пробіотиків замість антибіотиків.

7. Bacillus Пробіотики у Птахівництві: Пробіотики *Bacillus* виявились ефективними завдяки їхнім спороутворювальним здібностям, стійкості до тепла та ефективності у кислому середовищі кишечника курей. Дослідження показали, що пробіотики *Bacillus* покращують ріст, здоров'я та продуктивні показники у бройлерів, що борються з хворобами, і можуть бути хорошою альтернативою антибіотикам у кормах.

8. Лактобактерії (LAB) та Антимікробні Сполуки: LAB виробляють широкий спектр антимікробних сполук, таких як антимікробні пептиди (AMP), органічні кислоти та бактеріоцини. Ці сполуки ефективні проти патогенних мікроорганізмів, що демонструє потенціал пробіотиків для зменшення патогенних атак у тваринництві.

Підсумовуючи, пробіотики представляють собою життєздатну та стійку альтернативу антибіотикам у кормах для тварин, пропонуючи переваги у вигляді покращення здоров'я, імунітету та продуктивності тварин. Дослідження свідчать, що перехід від антибіотиків до пробіотиків може зменшити ризики, пов'язані з антибіотикорезистентністю та накопиченням залишків антибіотиків, одночасно покращуючи загальне здоров'я та ефективність тваринництва.

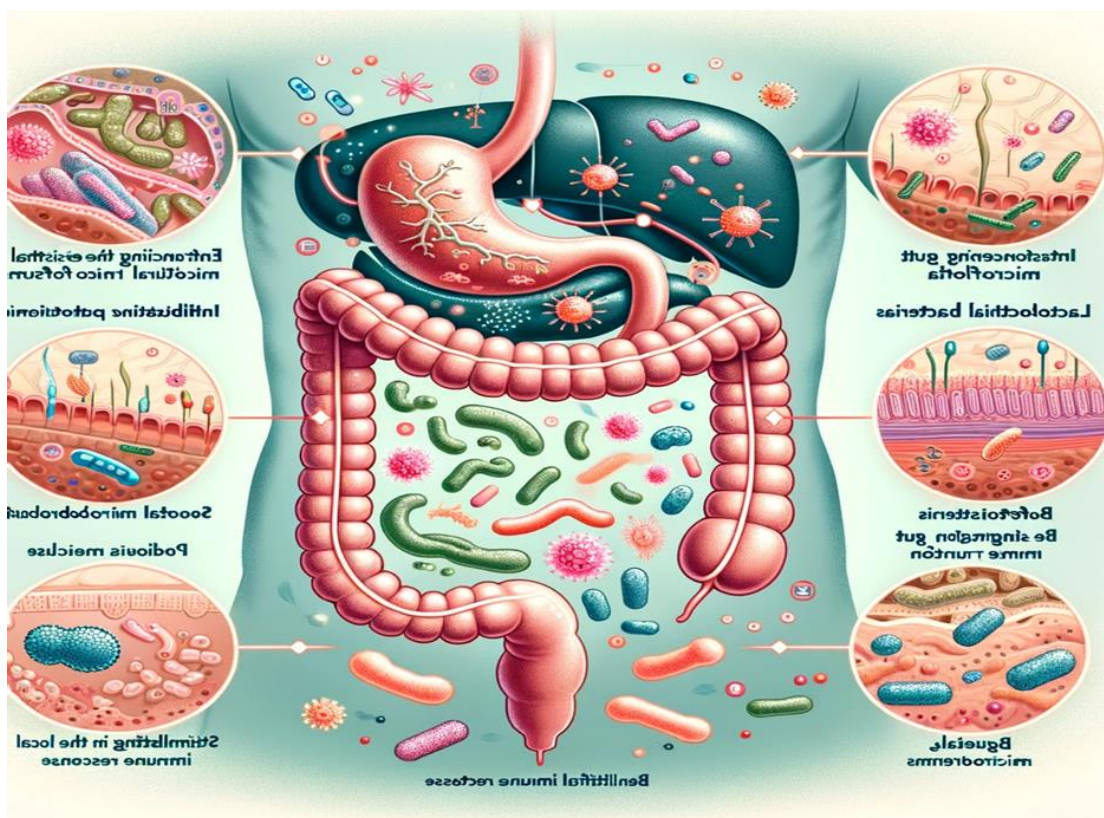


Рис. 1.2. Взаємодія пробіотиків із кишковою мікрофлорою
кишкового тракту людини

На рис. 1.2 представлена ілюстрація, що показує взаємодію пробіотиків з кишковою мікрофлорою в кишковому тракті тварини. Ви можете побачити різні пробіотичні бактерії, такі як *Lactobacillus* та *Bifidobacterium*, які взаємодіють з існуючою мікрофлорою кишечника, посилюючи корисні бактерії, пригнічуючи патогенні мікроорганізми, та стимулюючи місцеву імунну відповідь у кишечнику.

На схемі також відображені візуальні елементи, які представляють зміцнення бар'єрної функції кишечника та виробництво корисних метаболітів пробіотиками. Кишечник зображено схематично з чіткими позначками різних секцій та процесів.

Розробка та проведення експериментів із застосуванням різних штамів пробіотиків у годівлі тварин вимагає ретельного планування та систематичного підходу. Ось ключові етапи та міркування для таких експериментів [42, 43]:

1. Вибір Штамів Пробіотиків [44]

- **Ідентифікація Пробіотиків:** Виберіть специфічні штами пробіотиків для тестування. Часто використовуються *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Bacillus* та інші.
- **Джерела Пробіотиків:** Забезпечте достовірність та якість пробіотиків, отримуючи їх від надійних постачальників або через власні лабораторні культури.

2. Підготовка Експериментальних Груп [14]

- **Селекція Тварин:** Виберіть підходящі види та породи тварин для дослідження (наприклад, бройлери, свині, корови).
- **Групи Експерименту:** Створіть кілька груп: контрольну групу (без пробіотиків або зі стандартними кормами), групи з різними штамами пробіотиків та, можливо, групу з традиційними антибіотиками для порівняння.

3. Протокол Годівлі [15]

- **Дозування Пробіотиків:** Визначте оптимальні дози пробіотиків для кожної групи.
- **Тривалість Експерименту:** Встановіть тривалість експерименту, що достатня для оцінки довгострокового впливу.

4. Моніторинг та Збір Даних [17]

- **Здоров'я та Поведінка Тварин:** Регулярно спостерігайте за загальним станом здоров'я, поведінкою та ростом тварин.
- **Продуктивність:** Вимірюйте ключові показники продуктивності, такі як приріст ваги, продуктивність виробництва м'яса/молока.
- **Якість Продукції:** Аналізуйте якість продукції (м'ясо, молоко) за допомогою лабораторних тестів.

5. Аналіз Мікрофлори Кишківника [17]

- **Збір Проб:** Регулярно збирайте зразки фекалій для аналізу мікрофлори кишківника.

- **Мікробіологічний Аналіз:** Використовуйте техніки секвенування ДНК або мікробіологічні культури для визначення складу мікрофлори.

6. Обробка та Аналіз Даних [18]

- **Статистичний Аналіз:** Застосовуйте статистичні методи для аналізу зібраних даних.
- **Інтерпретація Результатів:** Аналізуйте дані на предмет тенденцій та значимих відмінностей між групами.

7. Звіт та Висновки [18]

- **Документація:** Фіксуйте всі результати та спостереження.
- **Висновки та Рекомендації:** Сформулюйте висновки та можливі рекомендації на основі результатів експерименту.

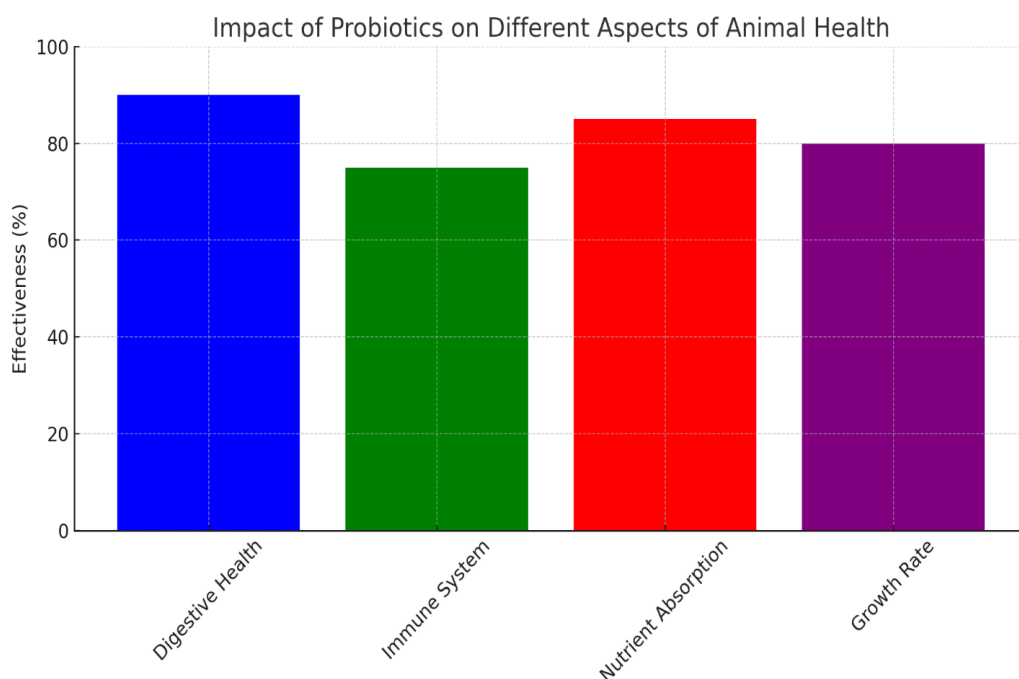


Рис. 1.3. Гіпотетичний вплив пробіотиків на різні аспекти здоров'я тварин.

8. Етичні Міркування [17]

- **Добробут Тварин:** Забезпечте гуманне поводження з тваринами та дотримуйтесь відповідних етичних норм.

Цей підхід дозволить отримати детальне розуміння впливу різних штамів пробіотиків на здоров'я, продуктивність та якість продукції тварин, а також на мікрофлору кишківнику.

Рис. 1.3 ілюструє гіпотетичний вплив пробіотиків на різні аспекти здоров'я тварин. Він показує ефективність пробіотиків у покращенні травлення, підвищенні імунітету, поліпшенні засвоєння поживних речовин та зростанні темпів росту тварин. Кожна категорія представлена різним кольором, що підкреслює різноманітні переваги пробіотиків у догляді за тваринами.

1.3. Перспективи використання пробіотиків у живленні сільськогосподарських тварин

Ефективність пробіотичних препаратів у тваринництві підтверджується багатьма науковими дослідженнями та клінічними спостереженнями. Ось кілька ключових відомостей та докази, що підтверджують їхню ефективність [45]:

1. **Покращення здоров'я кишечника:** Пробіотики допомагають підтримувати баланс мікрофлори кишечника тварин. Дослідження показали, що вони можуть запобігати дисбіозу та захворюванням шлунково-кишкового тракту.

2. **Підвищення продуктивності:** Використання пробіотиків може призвести до збільшення приросту ваги тварин, виробництва молока, яєць та інших продуктів. Це може позитивно впливати на економічну продуктивність галузі.

3. **Зниження захворюваності:** Пробіотики можуть допомагати зменшити ризик захворювань у тварин, оскільки вони конкурують з патогенними мікроорганізмами та створюють невідгідні умови для їхнього розвитку.

4. **Мікробіологічні дослідження:** Дослідження мікробіоти кишечника тварин перед та після застосування пробіотиків часто свідчать про позитивні зміни у складі мікроорганізмів на користь корисних бактерій.

5. **Контроль за захворюваннями і стресом:** Пробіотики можуть бути ефективними у зменшенні стресу та захворювань у тварин, особливо під час періодів стресу, таких як переїзди, зміни раціону або середовища.

6. **Синергетичний ефект з іншими дієтетичними доповненнями:** Пробіотики можуть використовуватися разом із синбіотиками (комбінація пробіотиків та пребіотиків) та іншими дієтетичними доповненнями для максимального користування.

7. **Дослідження застосування в різних галузях:** Ефективність пробіотиків досліджувалася в різних секторах тваринництва, включаючи птахівництво, свиноводство, молочне скотарство, рибництво, овець та кізництво.

Ці докази свідчать про те, що пробіотики можуть бути ефективними доповненнями у тваринництві, сприяючи здоров'ю та продуктивності тварин, а також допомагаючи зменшити ризик розвитку резистентності до антибіотиків і покращити екологічний вплив галузі [46].

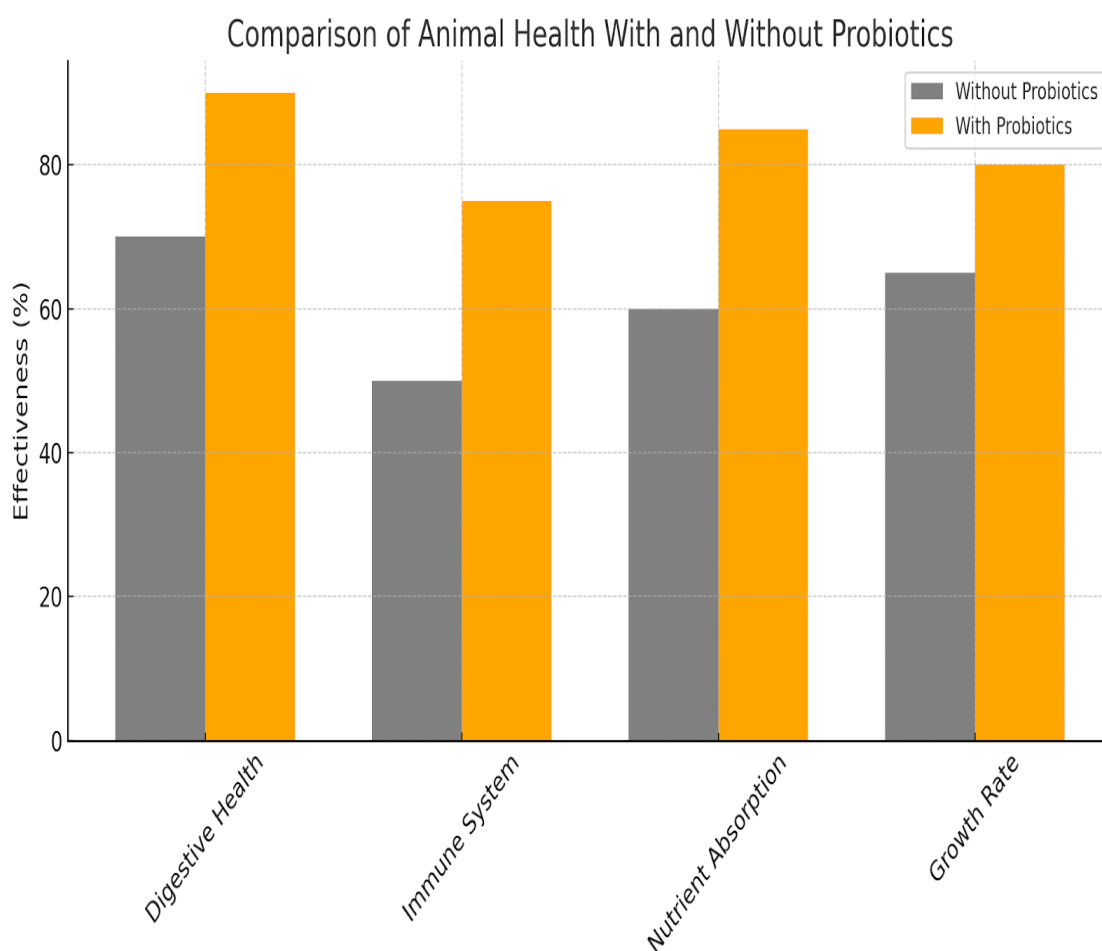


Рис. 1.4. Динаміка стану здоров'я тварин при використанні пробіотиків та без них

Порівняльний графік з пробіотиками та без них ілюструє порівняння стану здоров'я тварин при використанні пробіотиків та без них, наголошуючи

на перевагах пробіотиків. На цьому графіку ви можете побачити гіпотетичну ефективність пробіотиків у чотирьох ключових аспектах здоров'я тварин:

1. **Травлення (Digestive Health)** [47]: Пробіотики можуть покращувати функції травлення, забезпечуючи більш ефективне розщеплення поживних речовин.

2. **Імунна система (Immune System)**: Вони можуть зміцнювати імунітет тварин, допомагаючи організму протистояти інфекціям та хворобам.

3. **Засвоєння поживних речовин (Nutrient Absorption)**: Пробіотики сприяють кращому засвоєнню поживних речовин, що є важливим для загального стану здоров'я тварин.

4. **Темпи росту (Growth Rate)**: Поліпшення в загальному здоров'ї та харчуванні може позитивно вплинути на темпи росту тварин.

Графік показує, що використання пробіотиків (помаранчеві стовпці) забезпечує кращі результати у всіх цих категоріях, порівняно з відсутністю пробіотиків (сірі стовпці), вказуючи на їх значний позитивний вплив на здоров'я тварин.

Існує кілька інноваційних методів виробництва та застосування пробіотичних препаратів, які спрямовані на підвищення їхньої ефективності та довготривалості. Ось декілька з них:

1. **Мікроенкапсуляція** [48]: Цей метод включає в себе вкриття пробіотичних культур захисною оболонкою, що забезпечує захист від негативних умов середовища, таких як кислоти шлунку. Мікроенкапсульовані пробіотики можуть виживати під час травлення та досягати кишечника, де вони мають найбільший позитивний вплив.

2. **Використання синбіотиків**: Синбіотики - це комбінація пробіотиків та пребіотиків (нерозчинних вуглеводів, які живлять корисні мікроорганізми в кишечнику). Вони сприяють взаємодії та зростанню корисних бактерій в кишечнику, підвищуючи ефективність пробіотиків.

3. **Генетично модифіковані пробіотики**: Деякі дослідження спрямовані на створення генетично модифікованих пробіотичних штамів, які

мають покращені корисні властивості, такі як більша стійкість до шкідливих факторів або здатність синтезувати корисні сполуки в кишечнику.

4. **Нанотехнології:** Використання нанотехнологій дозволяє створювати наночастинки з пробіотиками, які можуть бути більш ефективно виведені до місця дії в організмі та забезпечувати кращий зв'язок з кишечником.

5. **Персоналізований підхід:** За допомогою молекулярних та генетичних аналізів можна розробляти персоналізовані рішення для тварин, враховуючи їхні індивідуальні потреби у пробіотиках.

6. **Метагеноміка:** Використання метагеноміки дозволяє аналізувати склад мікробіоти в кишечнику тварин та розробляти пробіотичні препарати, які сприяють балансу корисних мікроорганізмів в конкретному організмі.

Ці інноваційні методи спрямовані на підвищення ефективності пробіотичних препаратів у тваринництві, зменшення ризику резистентності та покращення здоров'я та продуктивності тварин.

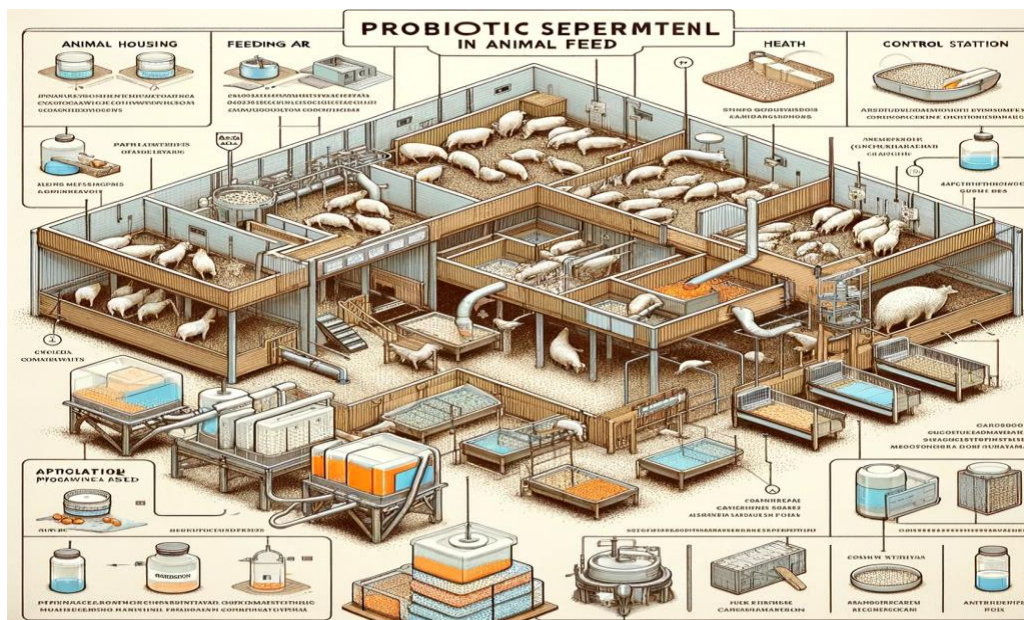


Рис. 1.5. Експериментальна установка для дослідження впливу кормових пробіотиків на тварин

На рис. 1.5 наведена детальна схематична діаграма експериментальної установки для випробування пробіотиків у кормі для тварин. Ця установка включає різні секції, такі як зони для утримання тварин з різними групами, станції годівлі, оснащені пробіотичними та контрольними кормами, станції моніторингу для оцінки здоров'я та росту, а також специфічні місця для збору зразків для аналізу кишкової мікрофлори. Установка організована чітко та логічно, з позначеннями для кожної секції та компонента.

Пробіотики можуть мати значущий позитивний вплив на різні галузі тваринництва, сприяючи поліпшенню здоров'я та продуктивності тварин. Нижче розглянуто, як вони можуть бути корисними у різних секторах:

1. Птахівництво:

- **Бройлери та курки-несучки [49]:** Пробіотики допомагають зберігати здоров'я кишечника та покращують перетравлення корму, що призводить до збільшення приросту ваги та виробництва яєць.

- **Підвищення імунної системи:** Пробіотики можуть покращувати імунну систему птахів, зменшуючи ризик захворювань.

Свиноводство [49]:

- **Збільшення приросту ваги:** Використання пробіотиків може сприяти кращому засвоєнню поживних речовин та ефективному росту свиней.

- **Зменшення захворюваності:** Пробіотики можуть допомагати зменшити ризик розвитку захворювань та впливати на мікрофлору кишечника, що сприяє загальному здоров'ю та виробництву.

Молочне скотарство [50]:

- **Підвищення виробництва молока:** Пробіотики можуть покращити перетравлення корму та надавати користний вплив на кишечник корів, що може призвести до збільшення виробництва молока.

- **Зменшення захворюваності та стресу:** Пробіотики допомагають збалансувати мікробіому кишечника та зменшити ризик захворювань та стресу у тварин.

Інші галузі тваринництва:

- **Рибництво:** Використання пробіотиків може покращити ріст та здоров'я риб, що підвищує виробництво водних організмів.
- **Овець та кізництво:** Пробіотики можуть бути корисні для покращення перетравлення корму та здоров'я рубця у великої рогатої худоби.

У всіх цих галузях використання пробіотиків вимагає правильного вибору штамів, дозування та способу введення. Окрім того, дослідження і розробка нових пробіотичних препаратів сприяють постійному вдосконаленню їхнього використання в тваринництві для підвищення ефективності та здоров'я тварин.

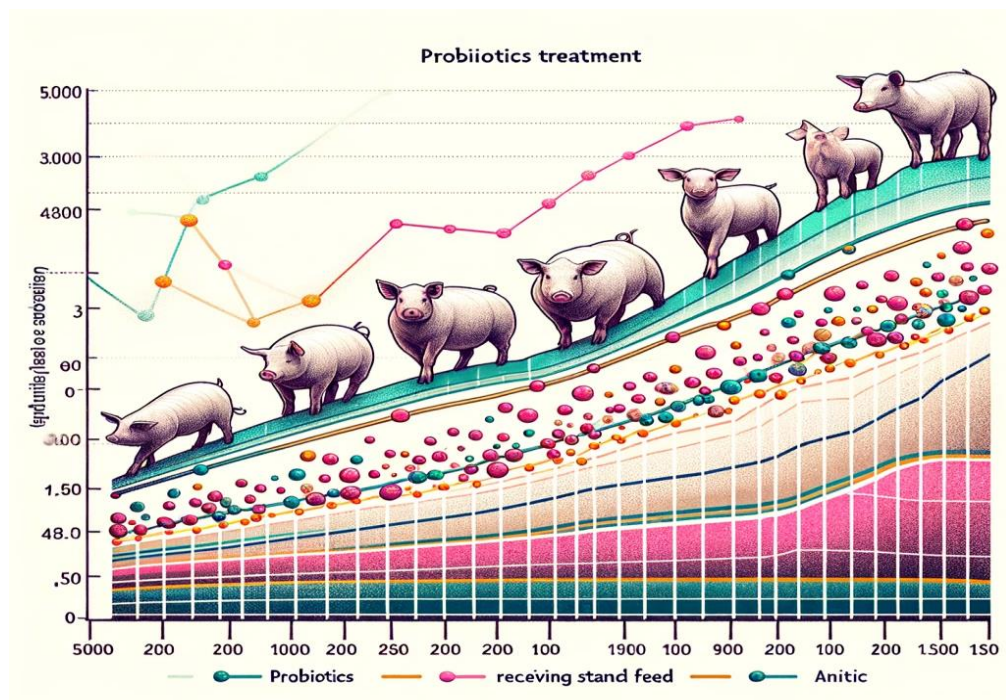


Рис. 1.6. Динаміка впливу пробіотиків на ріст і здоров'я тварин упродовж експерименту

На рисунку наведеному вище представлено лінійний графік, що ілюструє вплив пробіотиків на ріст і здоров'я тварин протягом часу. На графіку відображено декілька ліній, які представляють різні групи тварин: одна група отримує лікування пробіотиками, інша – стандартний корм (контрольна група), та, можливо, група, що отримує антибіотики для

порівняння. Вертикальна вісь графіка представляє швидкість росту або показники здоров'я, а горизонтальна вісь – час. Кожна лінія має відмінний колір і чітко позначена для легкого впізнавання.

1.3.1. Сильні та слабкі сторони використання пробіотиків як альтернативи кормовим антибіотикам

Для оцінки сильних та слабких сторін існуючих досліджень щодо використання пробіотиків як альтернативи кормовим антибіотикам, важливо врахувати наступні аспекти:

Сильні Сторони

1. **Позитивний Вплив на Здоров'я Тварин:** Багато досліджень підтверджують, що пробіотики можуть покращувати кишкове здоров'я тварин, підвищуючи їх імунну відповідь та загальне самопочуття.

2. **Зниження Ризику Резистентності до Антибіотиків:** Пробіотики не сприяють розвитку резистентності до антибіотиків, що є важливим питанням глобального здоров'я.

3. **Екологічна Безпека:** Використання пробіотиків зменшує екологічні ризики, пов'язані з використанням антибіотиків, які можуть потрапити у навколишнє середовище.

Слабкі Сторони

1. **Варіабельність Результатів:** Результати досліджень часто варіюються через різницю в штаммах пробіотиків, дозуваннях, та умовах досліджень.

2. **Обмеження у Дослідницьких Методах:** Деякі дослідження можуть мати методологічні обмеження, що впливають на їх надійність та загальну валідність.

ефекти використання пробіотиків у тваринництві.

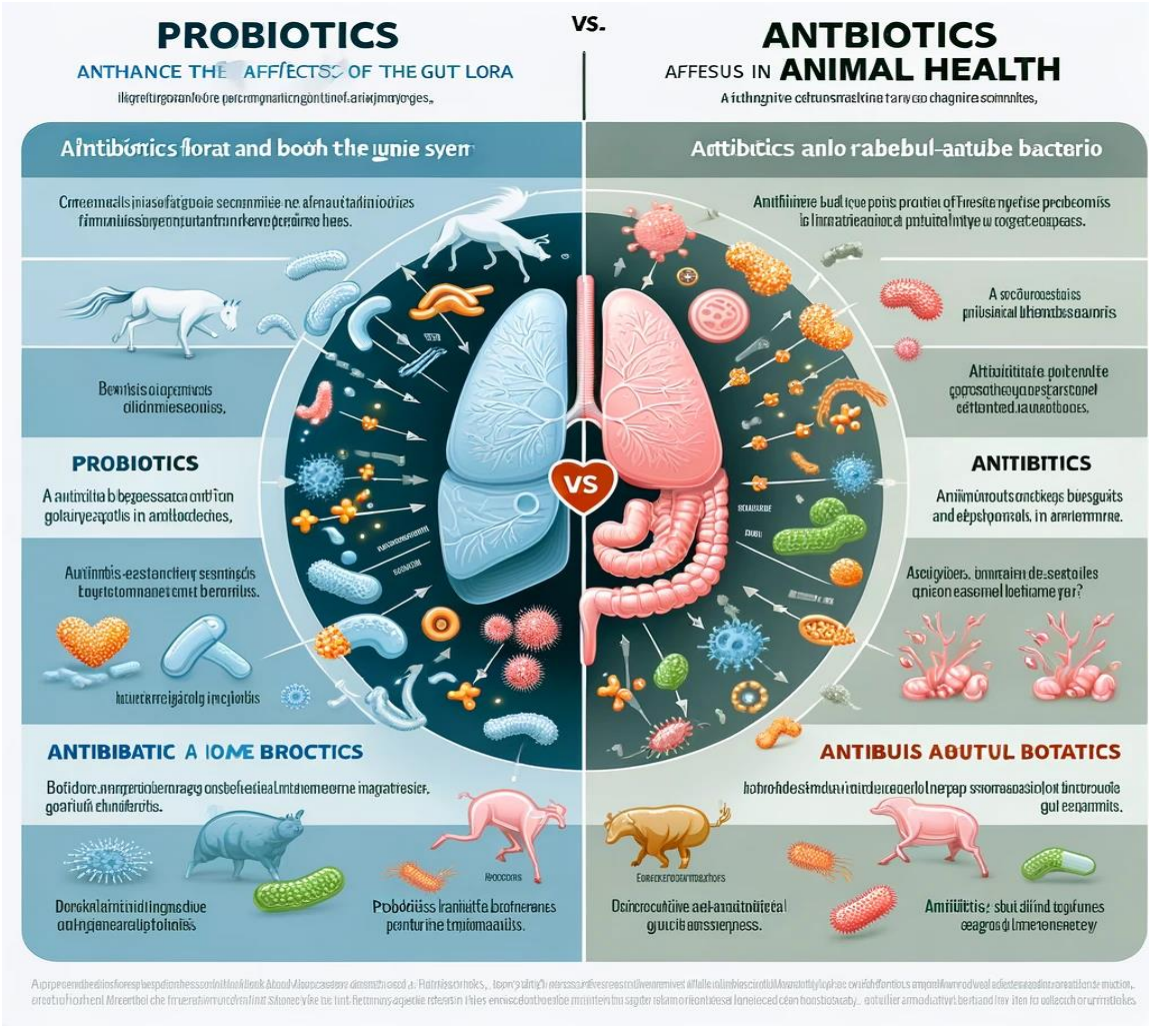


Рис. 1.6. Порівняльна характеристика впливу пробіотиків та кормових антибіотиків на здоров'я тварин

На зображенні вище представлено порівняльну схему, що ілюструє вплив пробіотиків у порівнянні з антибіотиками на здоров'я тварин. Схема візуально контрастує механізми дії пробіотиків і антибіотиків, демонструючи, як пробіотики підсилюють кишкову флору та стимулюють імунну систему, в той час як антибіотики націлені на знищення патогенних бактерій, але можуть також впливати на корисну кишкову флору.

На схемі зображені кишковий тракт тварин, мікробна флора та імунна відповідь, з чіткими позначеннями та контрастними кольорами для розрізнення впливу пробіотиків та антибіотиків.

Переваги використання пробіотиків:

1. **Збереження здоров'я тварин:** Пробіотики сприяють підтримці балансу мікрофлори кишечника та зменшують ризик захворювань у тварин, що призводить до зниження потреби у застосуванні антибіотиків.

2. **Підвищення продуктивності:** Використання пробіотиків може підвищити приріст ваги тварин, виробництво молока або яєць, що є важливим для економічного аспекту галузі.

3. **Зменшення витрат на антибіотики:** Відмова від антибіотиків на користь пробіотиків може допомогти зменшити витрати на лікування тварин та уникнути ризику резистентності до антибіотиків у тваринному стаді.

4. **Екологічний аспект:** Зменшення використання антибіотиків може допомогти уникнути розповсюдження антибіотиків у довкіллі та зменшити негативний вплив на довкілля.

Загальною висновком є той факт, що пробіотики мають значущий потенціал як альтернатива кормовим антибіотикам у тваринництві. Їхня ефективність у покращенні здоров'я та продуктивності тварин добре досліджена і підтверджена. Однак важливо враховувати, що вибір правильних штамів, дозування та способи введення пробіотиків є ключовими факторами для досягнення оптимальних результатів.

Перспективи використання пробіотиків включають подальші дослідження, розробку нових продуктів та персоналізованих підходів, що сприятимуть подальшому розвитку цієї альтернативи у тваринництві.

РОЗДІЛ 2. УМОВИ ТА МЕТОДИКА ПРОВЕДЕННЯ ДОСЛІДЖЕНЬ

2.1. Біотехнологія одержання мікробних препаратів – пробіотиків та критерії підбору штамів мікроорганізмів

В сучасних умовах, як у гуманній медицині, так й у ветеринарній, з метою профілактики і корекції мікробної екосистеми шлунково-кишкового тракту людини та тварин використовують продукти функціонального живлення, збагаченими продуктами життєдіяльності мікроорганізмів із пробіотичними властивостями (табл. 2.1.).

Таблиця 2.1.

Характеристика основних профілактичних із пробіотичними
характеристиками препаратів [25].

№ п/п	Група препаратів (продуктів)	Діючі компоненти
1	Пробіотики (фармацевтичні препарати, спеціальні продукти та біологічно активні добавки)	Жива біомаса фізіологічної мікрофлори
2	Препарати на основі інактивованих мікроорганізмів	Інактивована біомаса пробіотичної мікрофлори
3	Пребіотики	Речовини, що сприяють селективному збільшенню популяції фізіологічної мікрофлори у кишечнику
4	Синбіотики	Комплекс пробіотика та пребіотика
5	Препарати метаболітного типу	Фізіологічно активні метаболіти пробіотичної мікрофлори
6	Продукти функціонального харчування	Живі мікроорганізми, їхні метаболіти та/або інші сполуки, що позитивно впливають на кишкову мікрофлору
7	Нутрицевтики	Поживні субстрати, що сприяють оздоровленню кишечника

Враховуючи значний асортимент сучасних пробіотичних препаратів, вироблених як в Україні, так й за її межами, однак, на даний час є актуальним проводити дослідження в напрямку вдосконалення технології одержання та поєднання різних пробіотичних препаратів з метою покращення їх дії.

Розробки, за даними ряду авторів [21-23] повинні приходити в наступноиу напрямку:

- дослідженні фізіології перспективних виробничих штамів з метою підбору поживних середовищ для їх культивування;
- визначенні процесів сорбції пробіотичних бактерій як загальнобіологічного процесу;
- вивченні ролі продуктів метаболізму та біологічно активних речовин мікробної клітини для визначення природи адгезинів, механізму антагоністичної активності;
- розробці технології виготовлення комплексних препаратів на основі консорціумів бактерій з широким спектром антагоністичної активності;
- дослідженні синергічної та інгібіторної дії різних видів і штамів пробіотичних бактерій;
- розробці оптимальної форми випуску препаратів (порошок, таблетки із захисним покриттям, капсули, гранули, суппозиторії, мазі, гелі тощо), яка б забезпечувала збереження біологічних властивостей пробіотиків та простоту і зручність їх застосування;
- вдосконаленні методів контролю антагоністичної активності препаратів, що містять життєздатні мікробні клітини, та розробці методів визначення вмісту живих мікроорганізмів [21-23].

Перспективними, економічно доцільними напрямками наукових досліджень щодо розробки та використання пробіотичних препаратів є:

- розробка експресних молекулярних методів дослідження складу й активності мікробіоценозів людини і тварин;
- пошук нових пребіотичних функціональних субстанцій;
- дослідження й деталізація молекулярних, біохімічних та інших механізмів ефективності пробіотиків, пребіотиків і синбіотиків у профілактиці, лікуванні та збільшенні термінів ремісії за різних захворювань, асоційованих з дисбалансом мікробної екології травного тракту;

- поглиблена оцінка нешкідливості пробіотичних препаратів і продуктів харчування, які використовуються людиною; дослідження можливості використання представників нормальної мікрофлори як носіїв для конструювання різного роду бактеріальних і вірусних вакцин;

- створення сучасних біотехнологічних підприємств з виготовлення пробіотиків, пребіотиків, синбіотиків, стартерних заквасок прямого внесення, антибіотиків, імуномодуляторів, вітамінів, біогенно активних пептидів, біосенсорів тощо на основі представників нормальної анаеробної мікрофлори людини й тварин [12, 19-20].

За кваліфікацією пробіотичних препаратів, окремі автори [28] їх поділяють на сім класів (табл.2.2).

Таблиця 2.2

Функціональна характеристика пробіотиків [28]

Пробіотики	Склад мікрофлори	Концентрація клітин, КУО/дозу
I покоління — пробіотики на основі монокультур облигатної або факультативної нормофлори		
Біфідумбактерин	<i>Bifidobacterium bifidum</i>	10^9
Колібактерин	<i>Escherichia coli</i>	10^9
Лактобактерин	<i>Lactobacillus fermentum</i> або <i>Lactobacillus plantarum</i>	10^8
II покоління — 2-4-компонентні пробіотики на основі облигатної, факультативної або транзитornoї флори		
Біфікол	<i>B. bifidum</i> , <i>E. coli</i>	10^8
Біфіформ	<i>Bifidobacterium longum</i> , <i>Enterococcus faecium</i>	10^7
Лінекс	<i>Bifidobacterium infantis</i> , <i>Lactobacillus acidophilus</i> , <i>E. faecium</i>	10^7
Капсули йогурту	<i>L. acidophilus</i> , <i>Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus</i> , <i>B. bifidum</i> , <i>Streptococcus thermophilus</i>	10^9
Симбіолакт композитум	<i>L. acidophilus</i> , <i>Lactobacillus casei</i> , <i>B. bifidum</i> , <i>Lactococcus lactis sp. lactis</i>	10^9
III покоління — пробіотики на основі транзитornoї мікроорганізмів		
Бактисубтил	<i>Bacillus cereus</i>	10^9
Біоспорин	<i>Bacillus subtilis</i> , <i>Bacillus licheniformis</i>	10^9
Ентерол-250	<i>Saccharomyces boulardii</i>	10^7
А-бактерин (Аеробакт)	<i>Aerococcus viridans</i>	10^8
Лактовіт форте	<i>Lactobacillus sporogenes</i> , <i>Bacillus coagulans</i>	10^8
IV покоління — синбіотики (комбінація пробіотиків і пребіотиків) та іммобілізовані пробіотики		

Пробіотики	Склад мікрофлори	Концентрація клітин, КУО/дозу
Екстралакт	<i>L. acidophilus</i>	10^8
Біфілакт-екстра	<i>B. bifidum</i>	10^8
Біфідумбактерин-форте	<i>B. bifidum</i>	10^7
Пробіфор	<i>B. bifidum</i>	10^8
V покоління — препарати на основі рекомбінантних генно-інженерних штамів		
Субалін	<i>B. subtilis</i>	10^9
VI покоління — полікомпонентні пробіотики на основі лактобацил і біфідобактерій		
Probiotic	<i>Lactobacillus</i>	10^9
Symbiolact	<i>Lactobacillus, Bifidobacterium</i>	10^{10}
Біфідум-Мульти-1,2,3	<i>Bifidobacterium</i>	10^9
Полібактерин	<i>Lactobacillus, Bifidobacterium</i>	10^9
VII покоління — мультипробіотики		
Симбітер	<i>Bifidobacterium, Lactobacillus, Propionibacterium, Lactococcus</i>	10^9
Симбітер концентрований		10^{13}
Симбітер-2		10^{12}
Симбітер-М		$10^9 - 10^{12}$
Апібакт		10^{12}

Деякі автори [32], рекомендують для отримання ефективного пробіотика використовувати два й більше бактеріальних штамів. При цьому, кожен з них повинен симбіотично продовжувати роботу інших, а разом – стимулювати процеси травлення в комплексі з тими мікроорганізмами, які традиційно заселяють травний канал. Крім цього, при відборі культур для приготування пробіотиків треба пам'ятати, що вони повинні відповідати наступним вимогам:

- бути непатогенними і нетоксичними у шлунково- кишковому тракті тварин;
- мати здатність до адгезії на епітелії та приживленню у травному каналі, у якому ферментативна активність висока, а середовище агресивне;
- зберігати активність в екосистемі рубця (у разі виготовлення пробіотика для жуйних тварин), переносити пасаж через шлунок та метаболізуватися у кишечнику моногастричних тварин і птиці, при цьому, підвищувати їх інтенсивність росту і резистентність до захворювань;
- бути стабільними і здатними тривалий час залишатися життєздатними

при зберіганні у чистому вигляді та в складі кормів [32].

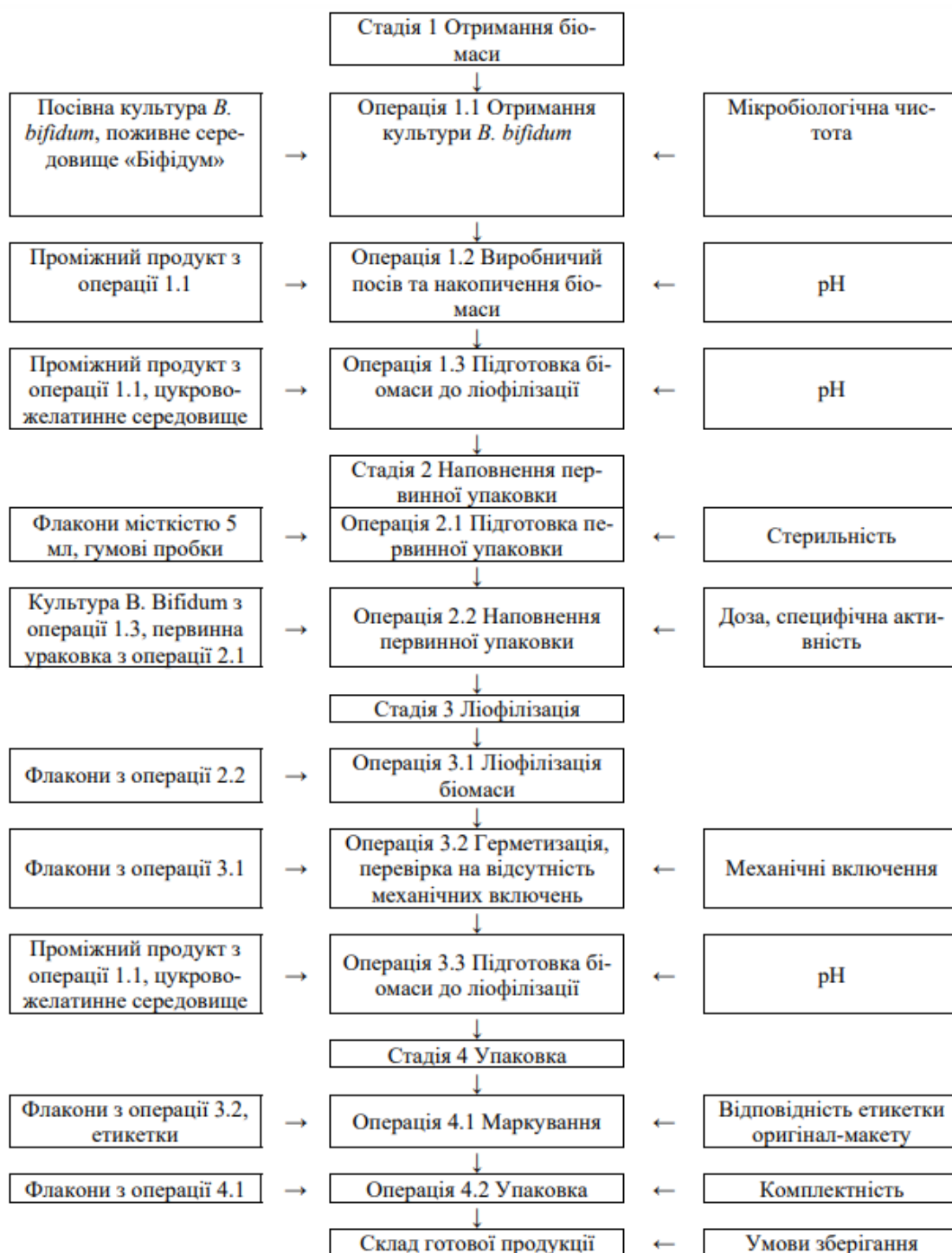


Рис. 2.1. Принципова технологічна схема виробництва пробіотичного препарату

Більшість класичних пробіотичних препаратів, які використовуються для профілактики та лікування людей та тварин розроблені на основі різних популяцій біфідобактерій та лактобацил.

Бактерії обох видів продукують молочну кислоту, визначаючи стан кислотності у шлунково-кишковому тракті та на слизових оболонках статевих шляхів. Вони продукують бактеріоцини, які чинять антимікробну дію проти потенційно патогенних штамів кишкової мікрофлори, мають сильні антагоністичні властивості стосовно багатьох умовно-патогенних і патогенних мікроорганізмів, попереджають колонізацію й розвиток патологічних процесів; відповідають за теплове забезпечення організму та енергозабезпечення епітелію; регулюють перистальтику кишечника, підтримують іонний гомеостаз; виводять екзогенні та ендогенні субстрати з організму; стимулюють імунну систему та місцевий імунітет; підтримують фізико-хімічні параметри гомеостазу; беруть участь у синтезі вітамінів, ферментів, антибіотиків, незамінних амінокислот, низькомолекулярних жирних кислот, пептидів, сигнальних молекул.

Таблиця 2.3.

Функції популяції мікрофлори кишківника [6, 7, 8].

Функція	Механізм реалізації
Колонізаційні резистентність	Міжмікробний антагонізм (продукція органічних кислот, перекису водню, мурамідази, бактеріоцинів, мікроцинів та ін. антагоністично активних речовин). Активація імунної системи (активація фагоцитозу, індукція синтезу імуноглобулінів, лізоциму, інтерферону, цитокінів)
Детоксикаційна	Гідроліз продуктів метаболізму білків, ліпідів, вуглеводів, декон'югація жовчних та гідроксильованих жирних кислот, інактивація гістаміну, ксенобіотиків та ін.
Синтетична	Утворення амінокислот, летючих жирних кислот, вітамінів, гормонів, біоактивних амінів та інших біологічно активних речовин
Травна	Посилення активності ферментів, травної та моторної функції шлунково-кишкового тракту

Вони також нормалізують та стабілізують мікрофлору кишківника, яка включає значну кількість різноманітних популяцій із значною чисельністю

до 10^{11} – 10^{13} клітин. Популяції мікрофлори кишківника виконують важливі для організму функції (табл.2.3) [6, 7, 8].

Як зазначалося вище, широке використання штамів лакто- та біфідобактерій, насамперед, зумовлено їх фізико-хімічними, біохімічними та іншими корисними властивостями щодо підтримки нормального функціонування біоти кишечника. Основні функції штамів лакто- та біфідобактерій наведені в табл. 2.4.

Таблиця 2.4.

Основні функції штамів лакто- та біфідобактерій [27, 29]

Функція	Основні фізіологічні ефекти
Захисна	Механічний захист слизової оболонки за рахунок компліментарності гліколіпідів стінки бактерій глікопротеїнам мембран ентероцитів. Пригнічення патогенних та умовно-патогенних мікроорганізмів: - конкуренція в боротьбі за нутрієнти; - утворення органічних кислот та багатоатомних спиртів; - продукування бактеріоцинів, перекису водню; - зниження рН в просвіті кишки. Імуномодельююча дія: - підвищення фагоцитарної активності макрофагів та нейтрофілів;
	- стимуляція утворення секреторного IgA; - підвищення вмісту цитокінів; - продукція α-, β- і γ-інтерферонів.
Регуляція процесів обміну	Зброджування вуглеводів з утворенням коротко ланцюгових жирних кислот. Синтез ферментів: глікозидаз (α- та β-глікозидази, α- та β-галактозидази, β-глюкуронідази, геміцелюлази), які розщеплюють вуглеводи, котрі не всмоктуються в тонкій кишці; протеаз, які руйнують ферменти процесів травлення; ліпаз, які завершують гідроліз жирів. Продукція вітамінів: А, групи В, С і К. Детоксикація екзогенних та ендогенних субстратів за рахунок біотрансформації та абсорбції.

Зазначені штами бактерій (лакто- та біфідобактерії) в процесі життєдіяльності перетворюють неперетравлені рештки продуктів харчування (залишки білків, ліпідів та особливо вуглеводів) у низькомолекулярні продукти в основному коротколанцюгові карбонові кислоти. Одержані

низькомолекулярні органічні кислоти, які відносяться до летких жирних кислот, як кінцеві продукти метаболізму мають здатність гальмувати ріст і розвиток патогенних та умовно-патогенних мікроорганізмів, табл. 2.5

Таблиця 2.5.

Вплив кінцевих метаболітів життєдіяльності лакто- та біфідобактерій на гомеостаз кишечника [24]

Ефект	Відповідальні метаболіти
Енергозабезпечення епітелію ЛЖК забезпечують до 20% щодобової енергетичної потреби організму та являються більш переважним джерелом енергії для колоноцитів, ніж глюкоза та інші субстрати	Масляна кислота, бутират
Регуляція проліферації та диференціювання епітелію Підвищення мітотичної активності ентероцитів крипт та швидкості їх міграції по мікрроворсинкам	бутират
Регулювання моторної активності кишечника Закислення та підвищення осмолярності кишкового вмісту стимулює перистальтику	Молочна, оцтова, мурашина, пропіонова, масляна кислоти
Підтримка анаеробіозу Абсорбція ЛЖК через слизову оболонку кишечника супроводжується зв'язуванням кисню, який потрапляє в цю область по капілярам	Пропіонова, масляна кислоти
Антибактеріальний ефект В кислому середовищі антагонізм біфідо- та лактобактерій до потенційних патогенів посилюється	Пропіонова, масляна та молочні кислоти, пропіонат
Регуляція іонного обміну (підтримка водно-електролітного балансу) Всмоктування масляної кислоти сприяє підвищенню абсорбції Na^+	Масляна кислота, бутират

2.2. Матеріал і методи дослідження

Експериментальні дослідження проведені в лабораторіях Державного науково-дослідного інституту (ДНДКІ) ветеринарних препаратів та кормових добавок, м. Львів. У наукових експеременах було використано класичні популяції лактобацил та біфідобактерій пробірітичних мікроорганізмів, а саме штами *Lactobacillus plantarum* 8R-A3 та *Bifidumbacterium bifidum* ЛВА-3, які найчастіше використовуються у лабораторній практиці.

Згідно із опрацьованими та апробованими методиками [31, 40] досліджувані штами лакто- та біфідобактерій одержували із музейних культур за наступною схемою:

- популяцію біфідобактерій вирощували на середовищі Блаурокка, Біфідум або модифікованому середовищі Блікфельда шляхом двократного пересіву за температури $38,0 \pm 1,0^{\circ}\text{C}$, слабо кислого середовища ($\text{pH} = 6,5 \pm 1,0$), упродовж 96 годин [31];

- популяцію лактобактерій вирощували на поживних середовищах Блікфельда-1, 2 та 4, які за основними елементами живлення були однаковими, однак відрізнялися за значенням рН середовища, що відповідно було рівнем: $6,7 \pm 1,0$; $7,3 \pm 1,0$ та $7,9 \pm 1,0$. Культивування проходило упродовж 96 годин за температури $38,0 \pm 1,0^{\circ}\text{C}$ із двократним пересіванням відповідно до методики [40].

Склад живильного середовища Блікфельда (МРС):

- | | |
|-------------------------------------|-------------------------------|
| - пептон – 10 г/л, | - ацетат Na – 5 г/л, |
| - м'ясна вода – 100 мл, | - амонію цитрат – 2 г/л, |
| - дріжджовий екстракт – 10 г/л, | - магнію сульфат – 0,2 г/л, |
| - глюкоза – 20 г/л, | - мангану сульфат – 0,05 г/л, |
| - K_2HPO_4 – 2 г/л, | - вода дистильована – до 1 л; |

Модифіковане середовище Блікфельда (МРС) у 200 мл бідистильованої води розчиняють:

- 0,05 г мангану сульфату,
- 0,2 г магнію сульфату,
- 0,2 г цистеїну,
- 2 г K_2HPO_4 ,
- 2 г цитрату амонію,
- 5 г ацетату Na,
- 20 г глюкози,
- 10 г пептону,
- додають 1 мл твіну-80,
- 50 мл дріжджового автолізу,
- 100 мл екстракту печінки та м'ясного екстракту.

Живильне середовище готували об'ємом 0,5 л. із гідролізату казеїну та дріжджового автолізу [41], попередньо простерилізувавши в автоклаві за температури $112 \pm 1,0^\circ C$ та тиску 0,6 атмосфер упродовж 40 хвилин.

Вміст органічних та мінеральних компонентів посівного середовища №1 та №2:

Склад посівного середовища №1	Склад посівного середовища №2
(г/л):	(г/л):
- ферментаційний гідролізат харчових дріжджів – 100 мг/мл;	- дріжджовий екстракт – 2,0;
- сахароза – 10,0;	- NaCl – 3,0;
- CH_3COONa – 7,5;	- K_2HPO_4 – 2,2;
- K_2HPO_4 – 3,0;	- KH_2PO_4 – 1,7;
- $MgSO_4$ – 0,5 мг/мл;	- $MgSO_4$ – 0,12;
- рН середовища до стерилізації дорівнює 6,5–6,8;	- рН середовища до стерилізації дорівнює 6,7–6,8;
- дистильована вода – до 1 л.	ферментаційний гідролізат соєвого шроту або борошна – до 1 л

Ефективність та безпечність кормового пробіотичного препарату перевіряли в науково-господарського досліду курчатах-бройлерах кросу “Cobb-500”, які були відібрані в добовому віці у кількості 400 голів, яких розділили за принципом аналогів на 4 групи– контрольну та 3 дослідних по 100 голів у кожній. Дослід тривав 42 доби.

Для науково-господарського дослідження матеріалом слугували Пробіотичні добавки згодовували у складі комбікорму упродовж усього періоду вирощування: бройлерам 1-ї та 2-ї дослідних груп пробіотики Лактокас та Пробіфід в дозі, відповідно, 0,4 та 0,5 г/кг корму; 3-ї дослідної – комплекс цих препаратів, а птиці контрольної групи згодовували комбікорм без пробіотиків. Утримання птиці було підлогове з вільним доступом до корму та води. При введення пробіотичних добавок до комбікорму використовували метод вагового дозування та багатоступеневого змішування.

Статистичну обробку одержаних результатів проводили за допомогою програми Microsoft Excel. Вірогідність різниці між показниками оцінювали з урахуванням t-критерію Стьюдента.

РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ

3.1. Особливості одержання пробіотичної кормової добавки за сумісного культивування лакто- та біфідобактерій

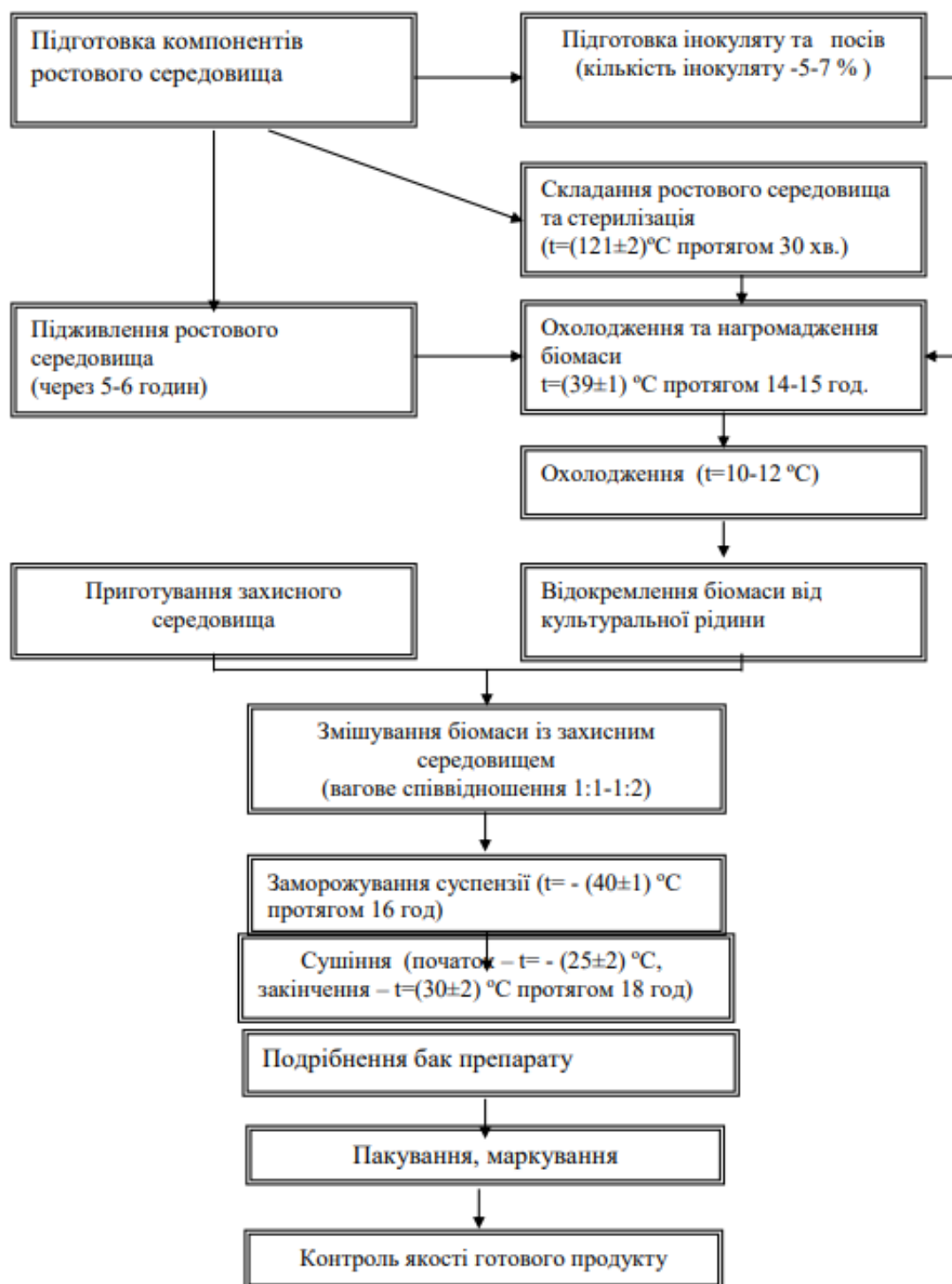


Рис. 3.1. Принципова технологічна схема одержання функціональної пробіотичної добавки

На рис. 3.3. наведена принципова технологічна схема одержання функціональної пробіотичної добавки, яку було одержано за сумісного культивування біфідо- та лактобактерій. Із літературних даних відомо [38], що сумісне культивування лактобацил та біфідобактерій досить активно проходить при використанні казеїново-дріжджовому як базового поживного середовища.

За використанням вище згаданого казеїново-дріжджовому поживного середовища та за дотриманням регламентованих технологічних параметрів культивування вдалося досягнути кількості живих бактерій у популяції в межах 10^9 КУО/мл із підвищенням кислотності середовища до 170°T , яке зумовлене утворенням значної кількості летких жирних кислот.

На мікрознімках фотографій (рис. 3.2.-3.3) можна спостерігати характерну для досліджуваних популяцій бактерії морфологічну будову форми тіла.

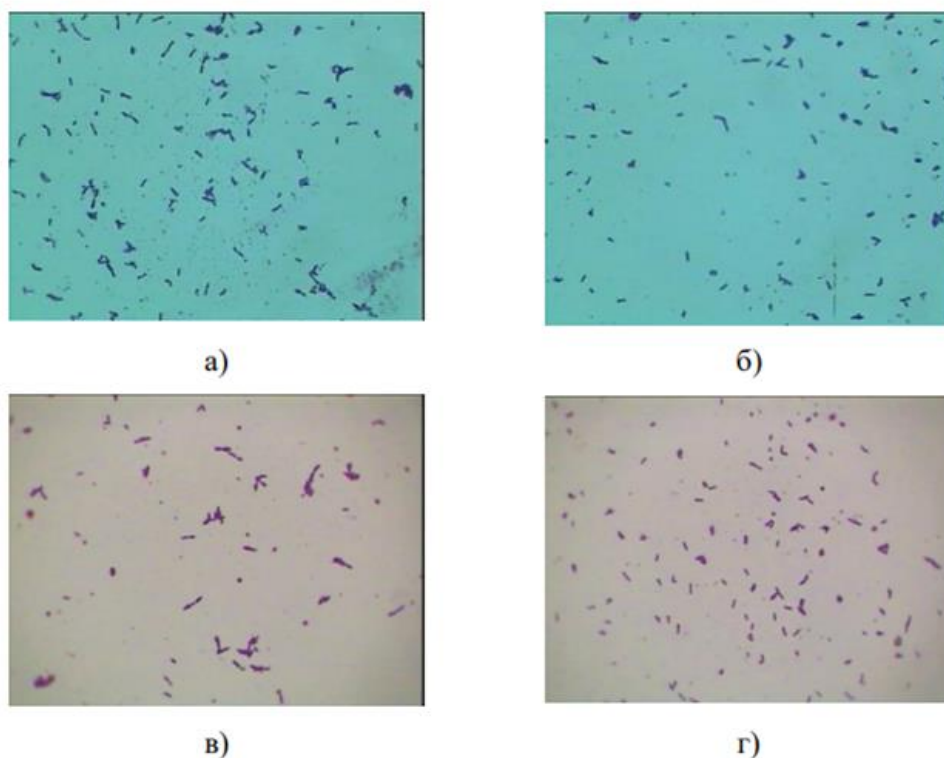


Рис. 3.2. Мікрофотографії штамів біфідобактерій:

а) – *B. gallinarum* ; б)– *B. pullorum*; в) – *B. suis* 4500; г) – *B. infantis*, (світловий мікроскоп, збільшення 10×100)



а)



б)



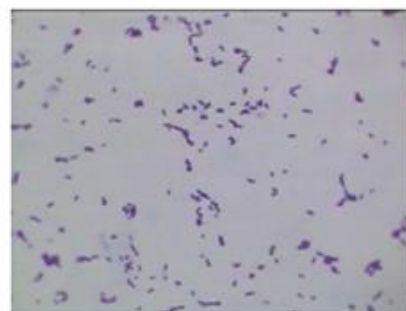
в)



г)



д)



е)

Рис.3.3.Мікрофотографії штамів лактобактерій:

а) *L. casei*; б) *L. plantarum*; в) *L. paracasei*; г) *L. acidophilus*; д) *L. brevis*; е) *L. sakei* (світловий мікроскоп, збільшення 10х100)

Враховуючи кількість живих лакто- та біфідобактерій у популяції культивованих на казеїново-дріжджовому живильному середовищі, їх активність щодо використання субстрату, морфологічну будову стало доцільним використовувати дане середовище для одержання пробіотичного кормового препарату.

На першому етапі експериментальних досліджень було визначено оптимальне співвідношення посівного матеріалу, тобто оптимальне поєднання лакто- та біфідобактерій за сумісного культивування (табл. 3.1).

Таблиця 3.1.

Активність росту лакто- та біфідобактерій за сумісного культивування та поєднання їх у різних співвідношеннях

№ проб и	Біфідобактерії			Лактобацили			Співвідно- шення
	Об'єм, мл	К-сть бактерій в 1 мл	№ генерації	Об'єм, мл	К-сть бактерій в 1 мл	№ генерації	
1	2.5	10^7 КУО	2	2.5	10^7 КУО	5	1 : 1
2	1.25	10^7 КУО	2	3.75	10^7 КУО	5	1 : 3
3	3.75	10^7 КУО	2	1.25	10^7 КУО	5	3 : 1
4	-	-	-	2.5	10^7 КУО	5	-
5	2.5	10^7 КУО	2	-	-	-	-
6	2.5	10^7 КУО	2	2.5	10^7 КУО	6	1 : 1
7	1.25	10^7 КУО	2	3.75	10^7 КУО	6	1 : 3
8	3.75	10^7 КУО	2	1.25	10^7 КУО	6	3 : 1
9	-	-	-	2.5	10^7 КУО	6	-
10	2.5	10^7 КУО	2	-	-	-	-

Для підтвердження можливості сумісного культивування біфідобактерій та лактобацил на поживному середовищі необхідно дослідити інтенсивність накопичення біомаси, провести мікроскопію отриманих зразків, визначити кількість живих бактерій, активність кислотоутворення. Нами було проведено три паралельні дослідження з використанням культури біфідобактерій другої генерації та лактобацил п'ятої та шостої генерації. Про інтенсивність росту бактерій та його закінчення свідчить кількість доданого аміаку. Візуальний огляд зразків підтверджує ріст і накопичення біомаси. У всіх пробах з часом спостерігалось формування білого осаду на дні флакону різної інтенсивності.

Для інтенсифікації проліферації лакто- та біфідобактерій в культурі додатково додавали джерело Нітрогену, у вигляді амоніаку різної концентрації, за сумісного їх культивування (табл. 3.2.).

Таблиця 3.2

Співвідношення лакто- та біфідобактерій у дослідних зразках та вміст у них амоніаку для джерела Нітрогену

№ проби	Співвідношення	К-сть аміаку, мл
1	1 : 1	0.35
2	1 : 3	0.36
3	3 : 1	0.26
4	Контроль лактобацил	0.41
5	Контроль біфідобактерій	0.37
6	1 : 1	0.48
7	1 : 3	0.72
8	3 : 1	0.35
9	Контроль лактобацил	0.63
10	Контроль біфідобактерій	0.19

Таблиця 3.3

Динаміка КУО/мл та активність кислотоутворення лакто- та біфідобактерій у дослідних зразках

№ проби	Біфідобактерії		Лактобацили	
	К-сть живих бактерій, КУО/мл	Активність кислотоутворення, °Т	К-сть живих бактерій, КУО/мл	Активність кислотоутворення, °Т
1	10^{12}	210	$6.27 \cdot 10^9$	373
2	10^{12}	228	$5.28 \cdot 10^9$	367
3	10^{12}	218	$1.8 \cdot 10^9$	365
4	-	-	$3.84 \cdot 10^9$	393
5	10^{12}	238	-	-
6	10^{12}	180	$6.1 \cdot 10^9$	383
7	10^{12}	215	$8.95 \cdot 10^9$	406
8	10^{12}	210	$3.28 \cdot 10^9$	393
9	-	-	$4.48 \cdot 10^9$	423
10	10^{12}	220	-	-

Динаміка усереднених даних щодо колонієутворюючих мікроорганізмів на мл поживного середовища та активність кислотоутворення як лактобацил, так й біфідобактерій у дослідних зразках наведено в табл. 3.3.

Аналізуючи попередньо наведені таблиці, можна стверджувати, що різні популяції як лактобацил, так й біфідобактерій активно ростуть та розмножуються за сумісного культивування на казеїново-дріжджовому живильному середовищі. Про це свідчить як приріст біомаси досліджуваних бактерій, так й зростання активної кислотності через накопичення коротко ланцюгових органічних кислот як кінцевих продуктів метаболізму їх життєдіяльності.

Додавання глюкози у різних концентраціях до основного базового поживного середовища культивування популяцій лактобацил та біфідобактерій сприятливо впливало на динаміку росту популяцій досліджуваних мікроорганізмів (рис.3.4).

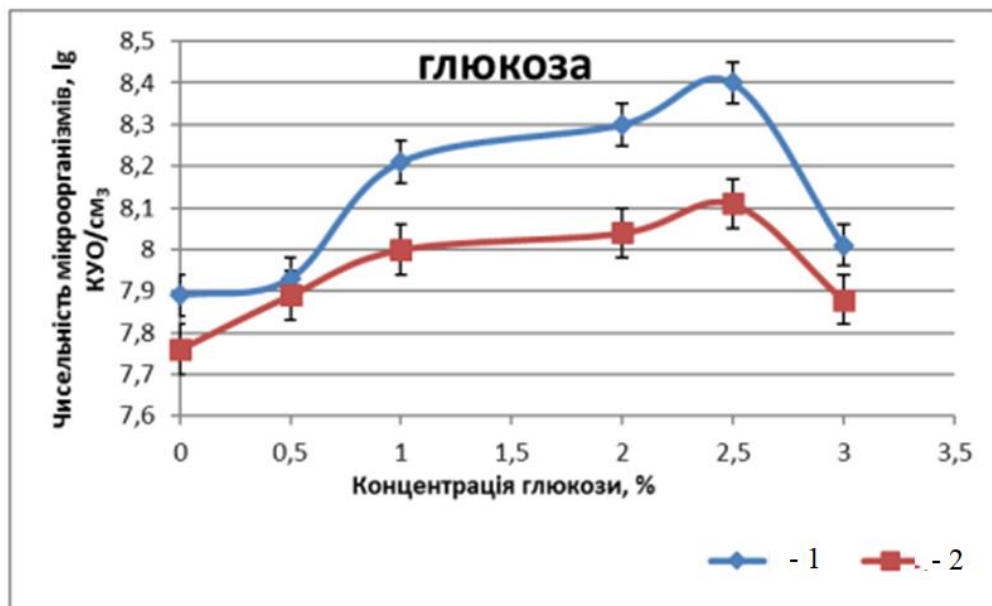


Рис.3.4. Динаміка чисельності досліджуваних мікроорганізмів (1 – лактобацили, 2 – біфідобактерії) залежно від концентрації глюкози в поживному середовищі.

Як видно із наведеного рисунку чисельність біомаси досліджуваних мікроорганізмів із збільшенням концентрації глюкози зростала до концентрації 2,5%, а далі вона різко знижувалась. Так, $\lg \text{ КУО/ см}^3$ лактобактерій за даної концентрації глюкози в поживному середовищі порівняно з контролем зросла на 0,5 $\lg \text{ КУО/ см}^3$, а відповідно біфідобактерії також зросли на 0,35 $\lg \text{ КУО/ см}^3$.

Використання модифіковане середовище Блікфельда (МРС) для культивування лактобацил та біфідобактерій у співвідношенні відповідно 1 до 3 спостерігається максимальне значення активного кислотоутворення для лактобацил (406°T) та наближається до максимального для популяцій біфідобактерій. Кількість живих клітин бактерій за даних умов культивування знаходяться на рівні показників, коли дві популяції бактерій культивували одноосібно.

3.2. Одержання пробіотичних добавок кормового призначення

Виробництво пробіотичних препаратів кормового призначення регламентується наступними принциповими стадіями технологічного процесу:

ДР 1. Санітарна підготовка виробництва. Відповідно до ГОСТ 52550-2006.

ДР 1.1 Підготовка персоналу

ДР 1.1.1 Навчання та інструктаж персоналу. Особи, які допускаються до виробництва повинні мати відповідну професійну підготовку і пройти інструктаж з охорони праці, ознайомитись з інструкцією з техніки безпеки на роботу, що буде виконуватися, а також інструктаж по санітарним основам.

ДР 1.1.2 Медичне обстеження персоналу. Медичне обстеження персоналу проводиться 1 раз на рік. Безпосередньо на виробництві з персоналом проводять інструктаж, щодо дотримання правил гігієни та санітарно – гігієнічних вимог [39, 41].

ДР 1.2. Підготовка технологічного одягу.

У виробничих приміщеннях персонал, що працює, забезпечується технологічним одягом і засобами індивідуального захисту. Технологічний одяг персоналу відповідає класу чистоти тієї зони, в якій він працює, і виконує своє основне призначення – максимально захищає продукт виробництва, від частинок [39, 41].

ДР 1.3. Приготування миючих та дезінфікуючих розчинів

Персонал та обладнання зобов'язані пройти відповідну обробку дезінфікуючими розчинами, відповідно до вимог GMP, з метою зменшення ризику зараження цільового продукту. Дезінфікуючі розчини, що призначені для обробки приладів та приміщень, готують згідно з «Методичних рекомендацій щодо приготування і застосування робочих розчинів мийних, дезінфекційних, мийнодезінфекційних засобів та антисептиків»

затверджених Наказом МОЗ України від 14 грудня 2001р. № 502.

ДР 1.3.1. Приготування розчину Дезактину. Мийно-дезінфекційний засіб Дезактин використовують для очистки та дезінфекції поверхонь всіх типів, для передстерилізаційної очистки. Розчин Дезактину готують 0,2 % концентрації, для цього 2 г порошку дезактину розбавляють 1 літром води.

ДР 1.3.2. Приготування розчину Хлорантоїну. Хлорактивний, багатокомпонентний, поліфункціональний дезінфекційний засіб. Робочий розчин засобу має миючі, дезінфікуючі та передстерилізаційні властивості [43].

ДР 1.4. Підготовка виробничих приміщень

Контроль мікробного забруднення проводиться не рідше, як 1 раз на тиждень: під час виробничого процесу і за 1,5 години до початку роботи. В змивах із площі 10x10 см не допустимий ріст мікроорганізмів на двох паралельних чашках Петрі.

ДР 1.4.1. Щоденне прибирання. На усіх виробничих ділянках 1 раз за зміну проводять вологе прибирання приміщень, обладнання і трубопроводів, так як можливий розвиток міцеліальних грибів і дріжджів. Панелі, стіни, двері виробничих приміщень класу С, D щоденно протирають вологими серветками, змоченими у 0,2% мийно-дезінфекційному засобі Дезактину та Хлорантоїну. Після проведення дезінфікуючої обробки приміщення звільнюють від персоналу і вмикають бактерицидні лампи, які розташовані на стелі не менше, ніж на 2 години.

ДР 1.4.2. Генеральне прибирання. Генеральне прибирання приміщення проводять один раз на 5-6 днів або на вимогу бактеріолога. Відпрацьовані миючі розчини направляються на знешкодження рідких відходів [34, 35]. По завершенню обробки приміщення звільняють від персоналу і вмикають бактерицидні лампи на 10-12 годин, і не менше, як за 30 хв. до початку роботи вмикають вентиляцію для ламінарного потоку повітря [34, 35].

ДР 1.5. Підготовка обладнання

ДР 1.5.1. Миття обладнання та комунікацій. Обробку обладнання і комунікацій здійснюють 0,5% розчином Біомою та дистильованою водою. Для миття обладнання використовується безрозбірна СІР мийка.

ДР 1.5.2. Ополіскування обладнання. Обладнання та комунікації, після миття, ополіскують упродовж 10 хв. холодною водою. Стічні води зливаються і направляються на стадію знешкодження відходів.

ДР 1.5.3. Технічний огляд та перевірка на герметичність. Апарат з прилеглими трубопроводами перед завантаженням середовища перевіряють на герметичність під дією атмосферного тиску (0,15 - 0,19) МПа. Тривалість перевірки цим методом одного апарату становить 1,5-2 години. Знайдені пропуски усувають і проводять повторну перевірку.

ДР 1.5.4. Стерилізація обладнання. Стерилізацію обладнання ведуть насиченою водяною парою за температури $(140 \pm 2)^{\circ}\text{C}$ і тиску $(0,29 \pm 0,02)$ МПа. Разом весь процес стерилізації одного ферментера становить 2,5 години [38].

ДР 2. Підготовка вентиляційного повітря

ДР 2.1. Забір повітря. Підготовка вентиляційного повітря включає в себе операції зі забору повітря з атмосфери за допомогою повітрязабірника Пз-1 через забірну шахту висотою 20–30 м, де концентрація мікроорганізмів стабілізована.

ДР 2.2. Механічна очистка повітря. Для попереднього очищення повітря використовують фільтри грубої очистки Ф-2, в яких з повітря вилучають механічні частки розміром більше 5 мкм.

ДР 2.3. Нагнітання повітря. При проходженні через вентилятор при тиску 0,2 МПа відбувається нагнітання повітря.

ДР 2.4. Кондиціонування та стабілізація параметрів повітря. Через вентилятор В-3 повітря надходить до нагрівальної колонки Нк-4, де відбувається усереднення та стабілізація фізико-хімічних показників повітря до температури 20°C та вологості 40-60 [38].

ДР 3. Підготовка поживних середовищ

Особливістю технологій біфідовмісних пробіотиків є використання складних середовищ для вирощування біфідобактерій, а також необхідність забезпечення чітких анаеробних умов культивування, що значно ускладнює технологічний процес. З огляду на фізіологічні потреби біфідобактерії є дуже вимогливими мікроорганізмами і потребують додаткових факторів росту. Ці бактерії мають потребу у вітамінах, амінокислотах, пептидах, пуринових і піримідинових сполуках, солях, ефірах жирних кислот, спеціальних ростових добавках [37]. Тому поживні середовища для культивування біфідобактерій та лактобактерій містять багато компонентів і мають складний технологічний процес приготування і стерилізації.

ДР 3.1. Приготування та стерилізація поживних середовищ (описано в розділі 2.2.).

ТП 4. Одержання посівного матеріалу лакто- та біфідобактерій

ТП 4.1. Відновлення музейної культури. Флакони/ампули з ліофілізованим штамом колекційних культур, з концентрацією клітин 10^9 КУО/см³, обробляють 76% спиртом, відкривають і градуйованою піпеткою в асептичних умовах вносять 5 мл фізіологічний розчин хлориду натрію (1 см³ на дозу). $t = 38 \pm 1^\circ\text{C}$. Вміст флаконів перемішують і тієї ж піпеткою переносять в стерильні пробірки, які призначені для отримання культури I генерації [37].

ТП 4.2. Вирощування культури I генерації у пробірках.

ТП 4.3 Вирощування культури II генерації в колбах.

ТП 4.4. Вирощування культури III генерації в інокуляторі.

ТП 5. Виробниче культивування

Культуру вирощують глибинним способом методом періодичного культивування у виробничому ферментері. Біореактор обладнаний приладами для вимірювання та регулювання температури, рН середовища, концентрації розчиненого кисню і культуральної рідини. Крім цього,

біореактор оснащений спеціальними опціями для подачі поживного середовища і вуглеводів, введення інокулята, подачі розчинів. Для перемішування ферментер оснащений механічною мішалкою зі швидкістю обертання 70-100 об/хв. Посівний матеріал вносять у ферментер в асептичних умовах у обсязі не більше 20% [16].

ТП 5.1. Заповнення ферментеру поживним середовищем. Приготоване поживне середовище вносять у ферментер протягом 2 годин. Коефіцієнт заповнення складає 0,6...0,7. Процес є анаеробним, асептичним. Поживне середовище, повторно, стерилізують в біореакторі за температури 110°C протягом 30 хвилин. Після охолодження простерилізованого середовища до температури культивування (38 ± 1) °C, в асептичних умовах, відбирають стерильну пробу для контролю стерильності поживного середовища [26].

ТП 5.2 Внесення посівного матеріалу до виробничого ферментеру. В асептичних умовах в ферментер, що містить поживне середовище, вносять посівний матеріал (20 % від об'єму середовища) протягом 0,3 години [36].

ТП 5.3 Виробниче культивування. Виробниче культивування здійснюється, за періодичного режиму, у ферментері за таких параметрів культивування: температура 38 ± 1 °C; рН 6,8-7,3 (регулюють 5%-м розчином амоніаку); надлишковий тиск 0,03-0,04 МПа; тривалість 10-16 год.

Перемішувач (70-100 об/хв), у процесі біосинтезу, вмикають на кілька (2-6) хвилин тільки перед відбором проб та після подачі 5%-го розчину аміаку. Весь інший процес вирощування біомаси проходить без перемішування. Через кожні 2 години культивування з ферментера відбирають проби культуральної рідини для проведення мікробіологічного контролю і визначення концентрації живих клітин [30, 33].

ТП 6. Стабілізація культуральної рідини

Культуральної рідину, одержану на попередній стадії у ферментері, переносять у збірник зі змішувачем, додають захисне середовище, у співвідношенні з культуральною рідиною 1:1, з метою запобігання загибелі

бактеріальних клітин при їх заморожуванні та висушуванні. Встановлюють рН 6,0-6,5 за допомогою 5% розчину амоніаку, одержуючи напівфабрикат препарату [32].

ТП 7. Ліофільне сушіння препарату

Технологічний процес відбувається в приміщенні класу чистоти С. Після процесу висушування одержують готовий пробіотичний препарат кормового призначення.

Одержаний пробіотичний кормовий препарат за своїм зовнішнім виглядом, складом, біохімічними та фізико-хімічними властивостями має відповідати певним параметрам, які наведені в табл.3.4.

Таблиця 3.4

Регламентовані якісні показники пробіотичних кормових добавок

Показник	Якісна характеристика
Зовнішній вигляд	Пориста суха маса
Колір	Від жовтуватого до світло-коричневого
Масова частка води, % не більше	6-7
Кількість життєздатних бактерій, млрд/г, не менше	4-5
Стерильність препарату від сторонньої мікрофлори, не більше	0,005
Нешкідливість на 1 мишу, г	10
Специфічна активність препарату до тест-культур, мм затримки росту	10-32

Поряд із цим, одержаний препарат повинен сприятливо впливати на організм господаря, володіти наступними функціональними властивостями:

- стійкість до кислотності шлунку,
- стійкість до жовчних кислот,
- адгезивна здатність,
- антимікробна активність,
- здатність до гідролізу жовчних кислот,

- збереження функціональної активності до технологічних операцій та зберігання [32].

Специфічна активність отриманого пробіотичного кормового препарату до тест-культур патогенних та умовно-патогенних бактерій щодо затримки росту наведена в табл.3.5.

Таблиця 3.5

Специфічна активність пробіотичного кормового препарату до тест-культур (патогенних та умовно-патогенних бактерій), мм затримки росту

Тест-культура	Зона пригнічення росту, мм
<i>Staphylococcus aureus</i> 209-P	16±2
<i>Staphylococcus aureus</i> spp.	42±4
<i>Escherichia coli</i> 5921	9,5±2
<i>Klebsiella pneumonia</i>	19±3
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	16±2
<i>Candida albicans</i> Y-1918	10±3
<i>Enterococcus faecalis</i>	8±2

Як видно із наведеної таблиці, кормовий пробіотичний препарат володіє значною абіотичною активністю, тобто він пригнічує ріст і розвиток патогенних та умовно-патогенних бактерій. До задекларованих вище параметрів даний пробіотичний препарат гальмує ріст наступних тест-культур: *Staphylococcus aureus* 209-P; *Staphylococcus aureus* spp; *Klebsiella pneumonia*; *Pseudomonas aeruginosa* та *Candida albicans* Y-1918, а пригнічення росту таких тест-культур як *Escherichia coli* 5921 та *Enterococcus faecalis*, дещо відстають від стандарту, а саме відповідно на 0,5 мм та 2,0 мм.

3.3. Апробація пробіотичної кормової добавки на курчатах-бройлерах

Апробацію пробіотичного кормового препарату як біологічно активної добавки до основного раціону живлення проводили на курчатах-бройлерах за наступною схемою, табл. 3.6:

Таблиця 3.6

Схема виробничих випробувань пробіотичного кормового препарату

Етапи випробування	
Установчий етап	
1	Попередній аналіз умов виробництва, технологічних зв'язків між статеві-віковими групами тварин
2	Аналіз результатів попередніх досліджень якості кормової бази, епізоотологічного фону підприємства і клінічного стану
Етап підготовки до виробничого випробування	
3	Виявлення цільової групи тварин для ефективного застосування пробіотичних препаратів
4	Визначення інформативних критеріїв оцінки клінічного стану і розробка шкали інтенсивності індикаторного симптомокомплексу стану здоров'я
Етап випробування	
5	Моніторинг прояву ознак пошкодження
Узагальнення отриманих даних, біометрична обробка, порівняння, висновки	
6	Етап корекції вибору про біотичних препаратів та лікувально-профілактичних схем застосування пробіотиків

На першому етапі досліджень було проаналізовано вплив біологічно активної добавки на метаболічні процеси, що проходять в організмі курчат-бройлерів і про які можна стверджувати аналізуючи біохімічні показники крові (табл. 3.7).

Із даних таблиці видно, що у курчат-бройлерів 2, 3 та 4 дослідних груп, яким до основного раціону живлення додатково додавали кормову добавку в кількості 0,2; 0,3 та 0,4 г/кг достовірно зросла кількість загального білка у 4 дослідній групі порівняно до контролю на 14,7%. Вміст гемоглобіну в крові також перевищував показники контрольної групи відповідно на 3,2, 5,2 та 8,4 %

Таблиця 3.7

Вплив згодованої біологічно активної добавки на біохімічні показники крові курчат-бройлерів, ($M \pm m$; $n = 5$)

Показники	1 контрольна	2 дослідна	3 дослідна	4 дослідна
Еритроцити, Т/л	3,11 $\pm$ 0,19	3,23 $\pm$ 0,21	3,28 $\pm$ 0,17	3,35 $\pm$ 0,14
Гемоглобін, г/л	108,6 $\pm$ 3,2	112,1 $\pm$ 2,5	114,3 $\pm$ 4,2	117,7 $\pm$ 3,8
Лейкоцити, Г/л	29,9 $\pm$ 1,3	30,1 $\pm$ 2,7	32,7 $\pm$ 2,1	33,5 $\pm$ 2,9
Загальний білок, г/л	35,16 $\pm$ 1,04	37,19 $\pm$ 1,82	36,21 $\pm$ 3,02	41,24 $\pm$ 1,16*
Сечова кислота, ммоль/л	0,57 $\pm$ 0,04	0,53 $\pm$ 0,05	0,56 $\pm$ 0,03	0,51 $\pm$ 0,03
Креатинін, мкмоль/л	83,412 $\pm$ 7,12	80,36 $\pm$ 8,14	82,73 $\pm$ 6,12	79,52 $\pm$ 5,11
АсАТ, ммоль/год $\times$ л	1,82 $\pm$ 0,18	1,79 $\pm$ 0,15	1,75 $\pm$ 0,25	1,73 $\pm$ 0,22
АлАТ, ммоль/год $\times$ л	0,94 $\pm$ 0,06	0,82 $\pm$ 0,06	0,86 $\pm$ 0,11	0,85 $\pm$ 0,09

Кількість еритроцитів у крові курчат-бройлерів дослідних груп була вищою від показника контрольної групи, але різниці, порівняно з контрольною групою, на цей період проведення досліджень не виявлено. Вміст лейкоцитів в усіх групах знаходиться в межах фізіологічної норми, однак, слід відмітити, що спостерігається тенденція до збільшення вмісту лейкоцитів у крові бройлерів дослідних груп порівняно з контролем.

За використання добавки вміст сечової кислоти та креатиніну мав тенденцію до зменшення, що свідчить про оптимізацію виведення кінцевих продуктів обміну нуклеїнових кислот нирками. Функціональний стан печінки вивчали за активністю індикаторних ферментів (АсАТ та АлАТ), яка у дослідних групах вірогідно не змінювалася порівняно з показниками групи контролю.

Під впливом пробіотичної кормової добавки стимулюються метаболічні процеси в організмі курчат-бройлерів, а це безпосередньо впливає на інтенсивність росту та розвитку птиці (табл. 3.8). Так, починаючи із 28 доби експерименту, в четвертій дослідній групі, де додатково до основного раціону згодовували 0,4 г/кг кормової пробіотичної добавки достовірно на 5,2% зросла жива маса курчат-бройлерів і складала 1342,6 г проти 1276,2 г у контролі.

Динаміка зростання живої маси курчат-бройлерів 4 дослідної групи порівняно із контрольною групою, де не використовували кормової добавки мала, загалом, лінійний характер та переважала їх в середньому на $5,0 \pm 1,0\%$. Що стосується динаміки приросту живої маси курчат-бройлерів 2 та 3 дослідних груп, то можна стверджувати, що тенденції щодо зростання були аналогічними до 4 дослідної групи та переважали показниками контрольної групи в середньому на 3,5-4,0%.

Таблиця 3.8

Вплив біологічно активної добавки на приріст живої маси курчат-бройлерів, г

Вік, днів	1 контрольна	2 дослідна	3 дослідна	4 дослідна
1	46,5±0,61	46,4±0,82	46,2±0,58	46,3±0,64
7	149,5±1,12	156,8±1,34	153,9±1,78	157,3±1,53
14	396,2±15,31	412,7±14,31	409,4±12,31	416,8±15,67
21	768,8±18,11	796,5±20,24	790,3±19,24	808,7±17,24
28	1276,2±20,14	1322,2±20,98	1311,9±21,32	1342,6±21,35*
35	1837,8±24,31	1903,9±26,12*	1889,2±26,41	1933,3±23,17*
42	2389,1±33,14	2475,1±34,19*	2455,9±31,52	2513,3±32,41**

Примітка: різниця достовірна *– $p < 0,05$; **– $p < 0,01$.

З наведених вище даних (приріст живої маси курчат-бройлерів) можна стверджувати, що використана пробіотична кормова добавка у дозі 0,4 г/кг базового корму, за наших умов експерименту, є найбільш ефективна та економічно доцільна. Однак, для остаточного висновку ефективності кормової добавки, необхідно провести повну оцінку зоотехнічних показників щодо вирощування курчат-бройлерів за регламентований термін 42 доби (табл.3.9).

Таблиця 3.9

Вплив біологічно активної добавки на регламентовані зоотехнічні показники вирощування курчат-бройлерів за 42 дні, ($M \pm m$; $n = 100$)

Показники	1 контрольна	2 дослідна	3 дослідна	4 дослідна
Жива маса добового курчати, г	46,5±0,61	46,4±0,82	46,5±0,58	46,3±0,64
Жива маса 1 гол., г	2389,1± 33,14	2475,1± 34,19	2455,9± 31,52	2513,3± 32,41
Середньодобовий приріст, г	55,8	57,8	57,4	58,7
Витрати корму на 1 кг приросту маси, кг	2,04	1,98	1,96	1,91
Збереження, %	96,0	98,0	97,0	99,0

Як видно, із основних показників зоотехнічного аналізу щодо вирощування курчат-бройлерів, найкращими господарськими результатами характеризується курчата-бройлери 4 дослідної групи. У цій групі курчат середньодобовий приріст був найвищим і складав 56,7 г, що на 2,9 г перевищував середньодобовий приріст курчат контрольної групи. Нескладно підрахувати, що за період експерименту (42 дні) жива маса курчат-бройлерів 4 контрольної групи переважає живу масу курчат-бройлерів контрольної групи на 121,8 г (2,9 г x 42 доби).

Цілком закономірно, що витрати корму на одиницю продукції у курчат-бройлерів 4 дослідній групі будуть найнижчими, бо в цій групі на кінець експерименту найвищий середньодобовий приріст та маса тіла птиці. Витрата кормів на 1 кг приросту живої маси курчат-бройлерів у 4 дослідній групі складав 1,91 кг, що на 0,13 кг був меншим за контроль.

Важливим технологічним показником вирощування курчат-бройлерів є показник збереження поголів'я. В експериментальних дослідженнях було встановлено, що за дотриманням всіх зоотехнічних та гігієнічних вимог живлення та утримання, найбільший відсоток збереження курчат-бройлерів (99%) було зафіксовано в 4 дослідній групі, що на 3% був вищим за аналогічний показник контрольної групи.

Використаний кормовий пробіотичний препарат у дозі 0,4 г/кг володіє високою біологічною активністю, що стимулює метаболічні процеси в організмі птиці, які сприяють підвищенню їх продуктивних якостей. Крім того, дана добавка володіє абіотичним та імуностимулюючим впливом, забезпечуючи профілактично-лікувальний ефект, про що вказує найвищий відсоток (99%) збереження курчат-бройлерів.

ВИСНОВКИ ТА ПРОПОЗИЦІЇ

1. Опрацьовані літературні дані щодо розробки, використання та вдосконалення технологій виробництва пробіотиків. Досліджені технологічні процеси одержання мікробних препаратів та критерії підбору пробіотичних штамів мікроорганізмів.

2. Розроблено технологічну лінію блоку інокуляції продуцента як посівного матеріалу для твердофазної ферментації. Подано креслення інокулятора для культивування посівного матеріалу на основі вибраних продуцентів.

3. Подано регламентні норми щодо сумісного культивування лакто- та біфідобактерій, підібрано поживне середовище, вивчено абіотичний вплив продуцентів кормового пробіотичного препарату на патогенні та умовно патогенних тест-культур.

4. На основі експериментальних досліджень доведена необхідність удосконалення існуючих технологій виробництва кормових пробіотичних добавок. Розроблена технологія сумісного культивування лакто- та біфідобактерій на казеїново-дріжджовому базовому поживному середовищі.

5. Використання пробіотичної кормової добавки у дозі 0,4 г/кг базового корму, за наших умов експерименту, є найбільш ефективна та економічно доцільна. Середньодобовий приріст складав 56,7 г, що на 2,9 г перевищував курчат контрольної групи, з витратами кормів на 1 кг приросту на 0,13 кг менше за контроль та 99% збереження курчат.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Даниленко С. Оцінювання пробіотичного потенціалу біологічно активних штамів, вилучених із природних джерел / С. Даниленко, С. Гарда, О. Потемська. Програма і матеріали четвертої міжнародної науково-технічної конференції «Перспективи розвитку м'ясної, молочної та олієжирової галузей у контексті євроінтеграції», 24-25 березня 2015 р. К.: НУХТ. 2015, С. 187-188.
2. Гарда С.О. Особливості біотехнології комплексного лактобіфідопробіотику: визначення впливу раціональної дози на продуктивність курчат-бройлерів. С.О. Гарда, С.Г. Даниленко, Т.М. Рижкова, Г.С. Литвинов. *Наукові вісті НТУУ "КПІ"*. 2017, №3. С.12-18.
4. Вивчення ефективності застосування пробіотиків та пребіотиків на імунологічні та мікробіологічні показники перепелів / [Д.Д. Маляр, Ю.О. Мельниченко, Я.В. Соломонюк, В.С. Бітюцький] // Технологія виробництва і переробки продукції тваринництва: зб. наук. праць. Біла Церква. 2013, Вип. 10 (105). С. 53–56.
5. Вплив кормової суміші полібіотіка на організм курчат-бройлерів / [Н. Е. Лісова, М.І. Жила, І. К. Авдосьєва та ін.]. *Наук.-техн. бюл. ДНДКІ ветпрепаратів та кормових добавок, Інститут біології тварин*. 2015, Вип. 16, № 1. С. 147–151.
6. Антибактеріальні й імуномодулювальні властивості штамів лакто- та біфідобактерій за експериментальної стафілококової інфекції / В. В. Мокрозуб, Л. М. Лазаренко, Л. П. Бабенко [та ін.]. *Біотехнологія*. 2012. Т. 5, № 2 С. 98–104.
7. Король, Ц.О. Оцінювання життєздатності культур молочнокислих бактерій при їх заморожуванні та сушінні / Ц.О. Король, С.Г. Даниленко, В.М. Закревська // Продовольчі ресурси: проблеми і перспективи: зб. наук. праць за матеріалами I Міжнар. Наук.-практ. конф., Секція 1.

«Інноваційні біотехнології та обладнання в харчовій промисловості» 30 лист. 2016р. Інститут продовольчих ресурсів НААН України. 2016, С. 22-25.

8. Калініченко С. В. Сучасні напрямки створення та удосконалення пробіотиків / С. В. Калініченко, О. О. Коротких, І. Ю. Тіщенко // Український біофармацевтичний журнал. 2016, №1 (42). С.4-9.

9. Даниленко С.Г. Визначення бактеріальної якості продуктів тваринного походження / С.Г. Даниленко, І.В. Панасюк, К.В. Копилова, Т.А. Крижська // Продовольчі ресурси: зб. наук. пр. / НААН України; Ін-т прод. Ресурсів НААН України. К.: ННЦ «ІАЕ», 2017. №8. С.36-41.

10. Вплив мультипробіотика «Апібакт®» на продукцію інтерферону й активність 2',5'-олігоаденілат-синтетази в лімфоцитах тимуса щурів за умов гіпоацидності, викликаной омепразолом / І.В. Компанець, С.В. Пилипенко, О.Г. Короткий [та ін.]. Біологічні студії. 2013, Т.7, № 2. С.27–36.

11. Потемська О.І. β -галактозидазна активність як критерій відбору штамів до складу бактеріальних препаратів / О.І. Потемська, Н.Ф. Кігель, С.Г. Даниленко, К.В. Копилова. Харчова наука і технологія. 2017, V. 11. № 3. С. 35-41 DOI: <http://dx.doi.org/10.15673/fst.v11i3.604>

12. Похилько, Ю. М. Пробіотичні властивості бактерій роду *Lactobacillus*, виділених зі шлунково-кишкового тракту кроликів / Ю.М. Похилько, Н.О. Кравченко // Біологічні Студії / *Studia Biologica*. 2018, Т. 12, №1. С. 35-46.

13. Мельниченко Ю.О. Біотехнологія одержання пробіотичної добавки та її використання за вирощування курчат-бройлерів: автореф. дис. на здоб. наук. ступ. канд. сільськогосп. наук / Мельниченко Ю.О. Білоцерківський національний аграрний університет. Біла Церква, 2016, 23с.

14. Жила М. І. Фармакологічні властивості пробіотичних кормових добавок та їх вплив на продуктивність поросят при відгодівлі / М. І. Жила, Т. Р. Левицький, І. М. Кушнір. *Науково-технічний бюлетень Інституту 119 біології тварин, ДНДКІ ветпрепаратів та кормових добавок*. Львів, 2014, Вип. 15. № 1. С. 158–163.

15. Зміни в складі кишкової мікрофлори японського перепела при використанні пробіотичної добавки / [М.В. Камінська, Г.В. Колисник, Ю.В. Кулай, Н.І. Борецька]. *Науково-технічний бюлетень*. 2009. 10 (2). С. 270–274.
16. Мельниченко Ю.О. Склад мікрофлори кишечника курчат-бройлерів за застосування поліфункціональних пробіотиків. Технологія виробництва і переробки продукції тваринництва: зб. наук. праць. Біла Церква, 2015. № 2 (120). С. 29–32.
17. Соломон А. М. Кисломолочні десерти збагачені біфідобактеріями / А. М. Соломон, Ю. А. Полевода // *Техніка, енергетика, транспорт АПК*, 2019. – № 2 (105). – С. 66 – 74
18. Юлевич О.І. Ефективність використання пробіотиків у годівлі помісних поросят на дорощуванні / О.І. Юлевич, А.В. Лихач, Ю.Ф. Дехтяр. *Науковий вісник ЛНУВМБТ імені С.З. Гжицького*. 2017, №74. т19. С.91-94.
19. Франко О.В. Бактеріальні препарати, як додатковий «бар'єр» у виробництві ферментованих м'ясних продуктів / О.В. Франко, С.Г. Даниленко, Л.П. Недорізанюк. *Продовольчі ресурси*. 2013, №1. С.58-64.
20. Стояновський, В.Г. Пробіотики та імунна система шлунково-кишкового тракту птиці / В. Г. Стояновський, І. А. Коломієць. *Сучасне птахівництво*. К.: Світ. 2011. №4. С.21-25.
21. Равлюк А.В. Аналіз виробництва пробіотичних препаратів в Україні /А.В. Равлюк, Н.В. Дехтяренко // *Біотехнологія: звершення та надії*. Збірник тез V Всеукраїнської науково-практичної конференції студентів, аспірантів та молодих вчених (12-13 травня 2016 року, м.Київ). КОМПРИНТ. С. 58-59.
22. Калініченко С.В. Сучасний стан розробки та застосування пробіотичних, пребіотичних та синбіотичних препаратів / С.В. Калініченко // *Аннали Мечниковського інституту*. 2013. № 3. С. 5–12.
23. Кишечна мікрофлора: вплив на неї пробіотиків та пребіотиків / [В.М. Рудіченко, М.О. Одинець, І.І. Тодорашко, В.В. Черватюк] // *Фармакотерапія*. 2014. № 9 (185). С. 32–35.

24. Коцюмбас І.Я. Пробиотики – необхідна складова при сучасних технологіях вирощування тварин / І.Я. Коцюмбас, М.І. Жила, М.І. Шкіль // Науковий вісник ЛНУВМБТ імені С.З. Гжицького. 2013. Т. 15, № 3 (57). Ч. 2. С. 174–181.
25. Кушнір І. М. Вивчення біологічних властивостей пробіотичних штамів мікроорганізмів / І. М. Кушнір, І. С. Семен, У. З. Майба // *Наук.-техн. бюл. ДНДКІ ветпрепаратів та кормових добавок та Ін-ту біології тварин.* – 2015. Вип. 16, № 2. С. 207–212.
26. Дехтяренко Н. В., Шинкаренко Л. М., Дуган О. М. Критерії відбору пробіотичних штамів мікроорганізмів // Наукові записки. Біологія та екологія. 2007. Т 67. С. 30 – 36.
27. Мельниченко Ю.О. Вплив нових пробіотичних штамів бактерій на продукцію інтерферону / Ю.О. Мельниченко, Д.Д. Маляр, Л.М. Лазаренко // *Наук. вісник НУБіПУ. К.*, 2014. Ч. 184 (4). С. 332–339
28. Авдєєва Л.В., Лазаренко Л.М., Хархота М.А. Імуномодулювальні властивості синбіотичних композицій пробіотичних штамів *Bacillus subtilis*, лактити або лактулози. Мікробіол. журн. 2015, 1. Т.77. С. 20–25.
29. Mokrozub V.V. The role of beneficial bacteria wall elasticity in regulating innate immune response / V.V. Mokrozub., L.M. Lazarenko., L.M. Sichel, L.P. Babenko, P.M. Lytvyn, O.M. Demchenko, Yu.O. Melnichenko, M.Ya. Spivak // *The EPMA Journal*. 2015. Vol. 6, № 13. P. 1–15.
30. Лаврик, Г.С. Характеристика адгезивних властивостей лактобацил-клінічних ізоляторів та складників біопрепаратів. *Annals of Mechnikov Institute*. 2015, №2. С.200-203.
31. Лабза, В. Ю. Використання пробіотиків мультибактерин та Імунобактерин-Л в якості засобів профілактики захворювань поросят [Електронний ресурс] / В. Ю. Лабза // *Наукові доповіді Національного університету біоресурсів і природокористування України*. 2016. Режим доступу до ресурсу: <http://nbuv.gov.ua/UJRNND>

32. Засєкін Д. У СОТ та ЄС – без антибіотиків у кормах і продукції тваринництва / Д. Засєкін, В. Прус, О. Рева. Ветеринарна медицина України. 2012. № 4. С. 30–31.
33. Тенденції розвитку комерційної біотехнології / В.Новіков, Ю. Сидоров, О. Швед // *Вісн. НАН України*. 2008, N 2. С. 25-39
34. Kuo, H. P. Delivery of grouper interferon by chitosan-modified poly (lacticco-glycolic acid) nanoparticles to protect nervous necrosis virus infection [Text] / H. P. Kuo, L. L. Goh, M. W. Lu, Z. L. Kong // Source: journal of nanoscience and nanotechnology. 2016. Vol. 16. P. 7521–7529. doi: 10.1166/jnn.2016.12348.
35. Федулова Л. І.Формування інноваційної системи біотехнологій: досвід зарубіжних країн, проблеми України / Л. І. Федулова, К. І. Федулова // Наука та інновації. 2012. Т. 8, № 4. С. 51-66. - Режим доступу: http://nbuv.gov.ua/UJRN/scinn_2012_8_4_9
36. Для корів і телят – пробіотики «Ентеронормін» і «Ентеронормін Детокс». Тваринництво сьогодні. 2018. № 6 (88). С. 404-407
37. Семенов С. О., Троценко З. Г., Карпинчик В. О. Новий вітчизняний пробіотик «Біонорм –К» для ефективного вирощування поросят / Свинарство. 2010. Вип. 58. С. 82–89.
38. Вплив нового вітчизняного пробіотика «Біонорм П» на ефективність вакцинації проти вірусних захворювань бройлерів / І.К. Авдосьєва, В.В. Регенчук, О.Б. Басараб [та ін.] // Ветеринарія, 2011. № 10 (107). С. 12–14.
39. Смірнов В.В., Патика В.П., Підгорський В.С. і ін. Мікробні біотехнології в сільському господарстві // Агроєкологічний журнал. 2002. No 3. С. 3-8.
40. Дехтяренко Н. В. Критерії відбору пробіотичних штамів мікроорганізмів / Н. В. Дехтяренко, Л. М. Шинкаренко, О. М. Дуган // Біологія та екологія. 2007. Т. 67. С. 30–36.

41. Система застосування про біотичних препаратів у тваринництві. Методичні рекомендації Інституту сільськогосподарської мікробіології НААН. К., 2010. 31с.
42. Каприльянс Л., Труфкаті Л., Крупицька Л. Режими сумісного культивування біфідо- та пропіоновокислих бактерій. *Вісник Львівського університету. Серія біологічна*. 2016. № 74. С. 143–149.
43. Гордієнко П. А., Чуєшов В. І. Розробка складу та технології таблеток-ядер комбінованого пробіотика // *Фармаком*. 2009, №3. С. 19 – 23.
44. Н. І. Філімонова, О. М. Дика та ін.. Основні властивості пробіотиків та жовчорезистентність // *Клінічна фармація*. 2011. Т.15, №2. С. 38 – 40.
45. Кушнір І. М., Семен І. С., Майба У. З. Вивчення біологічних властивостей пробіотичних штамів мікроорганізмів. *Наук.-техн. бюл. ДНДКІ ветпрепаратів та кормових добавок. Ін-т біології тварин*. 2015. Вип. 16. № 2. С. 207-212.
46. Що таке премікс і з чим його їдять? Режим доступу : <http://pigua.info/uk/post/company-news/so-take-premiks-i-z-cim-jogo-idat-uk>
47. Антиоксидантний та імунний статус молодняку ВРХ за дії пробіотичних препаратів БПС-44 та БПС-Л / [Агеєв В.О., Дерев'янка С.В., Дяченко Г.М. та ін.] // *Науковий вісник Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького*. 2008. Т. 10, № 3. Ч. 1. С. 10-17.
48. Стан антиоксидантної та імунної систем молодняку свиней за дії пробіотичних препаратів / Агеєв В.О., Дерев'янка С.В., Божок Л.В., Прокопенко О.І. // *Науковий вісник Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького*. 2009. Т. 11, № 2. Ч. 1. С. 3-8.
49. Пат. 46985 Україна, МПК(2009) А 23 К 1/00, С 12 N 1/20. Спосіб корекції стану антиоксидантної системи молодняку ВРХ та свиней / [В.О.

Агеєв, Г.М. Дяченко, С.В. Дерев'янка та ін.]. и 2009 08073, заявл. 31.07.2009 ; опубл. 11.01.2010, бюл. № 1. 3 с.

50. Nizhelska, O., Marynchenko, L., Makara, V., Naumenko, S., Kurylyuk A. "The Stabilizing Effect of Magnetic Field for the Shape of Yeast Cells *Saccharomyces cerevisiae* on Silicon Surface." *Innov Biosyst Bioeng*, 2018: 278-286.

