



УКРАЇНА

(19) UA

(11) 71233

(13) A

(51) 7 A23K3/00

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІОПИС
ДО ДЕКЛАРАЦІЙНОГО ПАТЕНТУ
НА ВИНАХІДвидається під
відповідальність
власника
патенту

(54) ГОРМОНАЛЬНО-ФЕРМЕНТАТИВНЕ ТРОФІЧНЕ СЕРЕДОВИЩЕ "БЮКОН"

1

2

(21) 20031211194

(22) 09.12.2003

(24) 15.11.2004

(46) 15.11.2004, Бюл. № 11, 2004 р.

(72) Пенясов Геннадій Павлович, Хоменко Світлана Юріївна, Заплава Наталія Миколаївна

(73) Набойченко Віталій Олександрович, Пенясов Геннадій Павлович

ферментативного трофічного середовища для

вирощування штамів амілолітичного молочнокислого стрептокока *Streptococcus lactis* і молочнокислої палички *Lactobacterium plantarum*.(57) Застосування пророщеного зерна ячменю як гормонально-ферментативного трофічного середовища для вирощування штамів амілолітичного молочнокислого стрептокока *Streptococcus lactis* і молочнокислої палички *Lactobacterium plantarum*.

Винахід відноситься до мікробіологічної промисловості, а саме, до трофічних середовищ і стосується середовища культивування лактобактерій, використовуваних для готування заквасок при силосуванні і сенажированні кормів.

Відомі способи готування молочнокислої закваски для консервування продуктів рослинного походження, що передбачають культивування молочнокислих стрептококів і паличок на рідкому живильному середовищі, включаючому крейду, обрат і кукурудзяний екстракт.

Відомий також «Спосіб готування молочнокислої закваски для консервування продуктів рослинного походження» (А. с. СРСР №492268, МПК-2 А23К3/00, БВ-43-75р.), у якому живильне середовище містить суху молочну сироватку (34-36 г/л), сухий кормовий концентрат вітаміну В₁₂ (5-7г/л) і крейду (4-6г/л).

Недоліком вищевказаних живильних середовищ є висока вартість їх, а також досить складна технологія готування молочнокислих заквасок.

Відомий «Спосіб культивування молочнокислих чи пропіоновокислих бактерій» (А. с. СРСР №1711788, МПК-5 А23К3/00, БВ-6-92р.), у якому використане живильне середовище наступного складу, г/л:

рибне борошно	10,0
пептон	5,0
глюкоза	20,0
лактоз	20,0

(NH ₄) ₂ SO ₄	2,0
крохмаль н/раств	10,0
CaCO ₃	5,0
NaCl	5,0
вода	до 1л

Недоліком цього живильного середовища є висока вартість і складна технологія культивування бактерій з використанням цього середовища.

Відомий «Спосіб культивування молочнокислих і пропіоновокислих бактерій» (А. с. СРСР №1769837, МПК-5 А23К3/00, БВ-39-92р.), у якому живильне середовище містить джерела вуглецю, азоту, мінеральні солі і відхід виробництва розеофунгіна у вигляді гідролізата міцелію продуцента, далі по тексту - живильна суміш АМС (без гідролізата міцелію) і живильна суміш АМС-1 (з гідролізатом міцелію).

Незважаючи на високий бактеріальний титр одержуваної закваски, спосіб і склад характеризуються складною технологією одержання і високою вартістю кінцевого продукту.

У роботах М.С. Карпова і Р.Н. Єкимової (М.С. Карпов, Р.Н. Єкімова, «Удосконалення силосних заквасок», изд. АН Казахської РСР, Т. VI, 1963р.) для одержання силосної закваски з високим бактеріальним титром використовувалося ліофільне і калориферне сушіння рідких заквасок, зроблених на середовищах з кукурудзяного відвару чи кукурудзяного екстракту з додаванням пептону, цукру, крейди, хлористого натрію, сірчанокислого амонію.

(13) A

(11) 71233

(19) UA

Зазначена технологія відрізняється надзвичайно високою вартістю виробництва силосної закваски через необхідність використання вакуумного низькотемпературного сушіння.

Відомі роботи з використанням для вирощування лактобактерій ущільнених середовищ, які значно підвищили бактеріальні титри заквасок.

Так, наприклад, Я.И. Клаар досліджував ущільнені середовища на молоці, житньому, гороховому, вівсяному борошні з додаванням автолізу кормових дріжджів, сірчаноокислого марганцю, ацетату натрію і крейди (Я.И. Клаар, «Заводське виробництво щільних заквасок». Праці Естонської сільськогосподарської академії, Тарту, 1970р., №71).

Однак склад ущільнених живильних свідчить про досить складну технологію виробництва щільних заквасок.

Відомі способи і склади для виробництва заквасок на більш простих ущільнених середовищах, у яких як основний інгредієнт використовувалися пшеничні висівки, наприклад:

- «Живильне середовище «ГПП» для вирощування штамів амілолітичного молочнокислого стрептокока», яке засновано на застосуванні пшеничних висівок як живильного середовища для вирощування штамів амілолітичного молочнокислого стрептокока *Streptococcus lactis diastaticus* (Патент України №48853 А, МПК-7 А23К3/00, бюл. №8, 2002р.);

- «Трофічна суміш «ЛАКТИС» (Патент України №48852 А, МПК-7 А23К3/00, бюл. №8, 2002р.), на основі пшеничних висівок, яка додатково містить цукор, крейду,

ацетат натрію, сульфат марганцю і воду, при цьому суміш містить зазначені компоненти при наступному співвідношенні, мас. %:

висівки пшеничні	45-50
цукор	3,0-3,5
крейда	1,0-2,0
ацетат натрію	1,0-2,0
сульфат марганцю	0,1-0,2
вода	інше

Відоме використання проростків пшениці й інших злаків у дієтичному і лікувальному харчуванні, наприклад:

- журнал «Здоров'я» №2, 2002р. - «Проростки пшениці своїми корисними властивостями зобов'язані харчовим волокнам. Є в проростках вітаміни групи В, Е, У, мінеральні речовини. Проросток володіє великою життєвою силою й енергетикою»;

- журнал «Фізкультура і спорт» №2, 1994р. - «У зародку, а також в оболонці зосереджені білки, корисні жири, олії і клітковина, мікроелементи і вітаміни. Іншими словами, цілі зерна містять усі необхідні речовини для нормального функціонування організму. У результаті промислового помолу і просівання зерен оболонки і зародки попадають у вивірки, що йдуть, в основному, на корм худобі. Вони містять вуглеводи і крохмалі, а також речовини, необхідні для біологічної активності»;

- журнал «Допоможи собі сам», №7, 1996р. - «Введення в раціон харчування пророслої пшениці робить оздоровлюючу дію і вплив, що омолоджує, на організм, тому що в ній містяться вітаміни і різні ферменти, які стимулюють життєдіяльність органі-

зму, оптимізують обмін речовин, зміцнюють нервову систему. Проросла пшениця вживається для відновлення життєвого тону, для більш швидкого виходу зі стану нездужання після хвороби, для зміцнення органів подиху, зміцнення зубів, поліпшення стану волосся»;

- газета «Кримська правда», 4 квітня 1995р. - «Дієта Бирхер-Боннера. Сира рослинна їжа навіть при досить великому обсязі відрізняється низькою калорійністю і винятково малою кількістю жирів, білків і вуглеводів. У зерні, що проростає, містяться вітаміни групи В і інші, ферменти, біологічно активні речовини. Вони роблять стимулюючий вплив, позитивно впливають на відновлення всіх життєвих процесів, обмін речовин і діяльність нервової системи, зміцнення зубів. Уже через 1-2 тижні в хворих настає поліпшення стану здоров'я і лікування від хронічних захворювань: туберкульозу, бронхіальної астми, виразки шлунку, виразки дванадцятипечної кишки, каменеутворення в різних органах. Знижується сприйнятливість до простудних захворювань. Чим довше застосовувати пророслу пшеницю, тим яскравіше виражений її позитивний ефект»;

- буклет першої харчової фабрики оздоровчих продуктів «Наша спадщина» - «Пробуджені зерна» - «Кожен злак - не просто продукт харчування, що має ті чи інші живильні властивості. Це живий проросток, що дрімає під глибокою оболонкою зерна і чекає моменту пробудження. Це живе утворення, що володіє своєрідною енергетикою, має величезний запас мінеральних речовин, вітамінів, мінералів, мікроелементів. Коли насіння пробуджується, вивільняється неймовірний енергетичний потік. Відбуваються природні хімічні перетворення. Виробляються ферменти, що утворюють концентровані живильні речовини в продукти, необхідні для росту рослини. Вітамін С і інші вітаміни, що містяться в насінні в незначній кількості, при пробудженні утворюються дуже інтенсивно, наприклад, вміст вітаміну Е збільшується в три рази і засвоюється він, принаймні, у десять разів ефективніше, ніж відповідний синтетичний препарат. Крім того, проростки мають властивість біогенності: вони живі і можуть віддавати вашому організму свою життєву енергію. У пробуджених зернах крохмаль цілком трансформується в розчинні форми, зберігаючи при цьому повноцінний набір харчових волокон, мінеральних речовин (фосфор, калій, магній, кальцій, залізо, мідь, цинк і ін.) і вітамінів (груп У, С, РР, Е, В-каротин, провітаміни А). Мінеральні речовини в пробуджених насіннях хелатировані, тобто вони знаходяться в природному стані - зв'язані з амінокислотами і тому добре засвоюються людським організмом. При цьому мінеральні речовини беруть участь в утворенні і дії усіх ферментів і підтримують визначене значення електричного заряду на мембранах усіх кліток, охороняючи їх від вторгнення мікробів»

Однак дотепер невідоме використання пророщеного зерна ячменю як трофічного середовища для вирощування штамів амілолітичного молочнокислого стрептокока *Streptococcus lactis* і молочної палички *Lactobacterium plantarum*.

Задачею винаходу є створення нового трофічного середовища для вирощування штамів амі-

политичного молочнокислого стрептокока *Streptococcus lactis* і молочної палички *Lactobacterium plantarum* з використанням пророщеного зерна ячменю як єдиного інгредієнта з досягненням технічного результату - підвищення кількості живих клітин лактобактерій на одиницю маси біоконсерванта, спрощення технології і здешевлення одержання кінцевого продукту - силосної бактеріальної закваски.

Поставлена задача досягається застосуванням відомого пророщеного зерна ячменю в якості гормонально-ферментативного трофічного середовища для вирощування штамів амілолітичного молочнокислого стрептокока *Streptococcus lactis* і молочної палички *Lactobacterium plantarum*.

Дроблена маса пророщеного зерна ячменю є основним і єдиним компонентом живильного середовища для росту і розвитку лактобактерій - джерелом гормонів, ферментів, легкодоступних амінокислот, жирних кислот і цукрів, вітамінів, мікро- і макроелементів.

Молочнокислі бактерії відносяться до групи гетеротрофних бактерій, тобто бактерій, що бідують для свого розвитку в достатній кількості легкодоступних готових органічних речовин: білках, вуглеводах, жирах, вітамінах, амінокислотах, простих цукрах і ін.

При цьому, перераховані речовини повинні бути присутнім у живильному середовищі у засвоєваних формах, придатних для поглинання живими клітинами бактерій.

Різні види лактобактерій мають потребу у визначених складах і формах готових живильних речовин.

З цієї причини дослідницькі публікації повні безліччю рецептів і складів живильних середовищ, деякі з яких зазначені вище.

Разом з тим, у природі існує джерело формування живильного середовища, до складу якого

входять найрізноманітніші готові живильні речовини.

Маються живильні речовини, що з'являються в насіннях рослин при їхньому проростанні, наприклад, при проростанні зерна ячменю.

У набряклому при зволоженні зерні ячменю відбуваються різноманітні складні фізіологічні і біохімічні процеси.

За спрощеною схемою, фермент амілаза, проникаючи в ендосперм зерновки, перетворює запасений у ньому нерозчинний крохмаль у розчинні у воді цукри; фермент ліпаза розщеплює жири до водорозчинних жирних кислот, а протелиаза і пептидаза гідролізують білок в амінокислоти, що також добре розчиняються у воді.

Під впливом фітогормонів ауксину, гиббериліна, цитокиніна клітки зародкового проростка зерновки, одержавши водорозчинні живильні речовини, починають енергійно поділятися і зерновка проростає (Життя рослин, т.5, М., «Освіта», 1980р.).

Можна припускати, що фітогормони можуть стимулювати і клітки лактобактерій до енергійного розподілу.

Якщо це так, то дроблена маса ячменю, що проростає, багата легкорухливими живильними речовинами і фітогормонами, може стати оптимальним середовищем для росту і розвитку лактобактерій і, отже, на такому середовищі можна одержати бактеріальний концентрат з дуже високим бактеріальним титром.

У таблиці 1 приводяться матеріали по речовинному складі зерна ячменю, що свідчать про його високу збагаченість білками, цукрами, крохмалем, жирами (В.А. Кротович. Біохімія зерна і хліба. АН СРСР, М. 1958р.).

Речовинний склад анатомічних частин ячменю, %:

Таблиця 1

Анатомічні частини	Білок	Крохмаль	Сахара	Клітковина	Пептозаны	Жир	Зола
Ендосперм	12,9	78,8	3,5	0,2	2,7	0,7	0,5
Зародок	41,3	-	25,1	2,5	9,7	15,0	6,3
Алейроновий шар	28,7	-	4,2	16,2	36,6	36,6	6,5

Перетворення приведених у таблиці 1 нерухомих живильних речовин під впливом ферментів при проростанні ячменю в різноманітні легкорухливі амінокислоти, цукри і жирні кислоти, безумовно забезпечить лактобактерії достатнім рівнем харчування при найвищих темпах розмноження стимульованих фітогормонами.

Проведені дослідження показали, що живильне середовище з дробленого ячменю («БІОКОН»), що проростає, дійсно є придатною для росту і розвитку лактобактерій.

У таблиці №2 наводяться дані по бактеріальному титру біоконсерванта «БІОКОН», виготовле-

ного на дробленому пророслому ячмені (середовище «БІОКОН»), у порівнянні із широковідомими силосними заквасками Казахстану.

У таблиці 2 використані матеріали Нугматжинова К.Г., Гаврилової Н.Н. «Інструкція з застосування сухого бактеріального концентрату «Казах-сіл» для силосування кормів». Алма-Ата, 1983р., а також «Результати аналізу біоконсерванта «БІОКОН» на бактеріальний титр». Республіканська СЭС, АР Крим, 2003р.

Бактеріальні титри біоконсервантів і дози їх внесення, які рекомендуються.

Таблиця 2

Марка біоконсерванта	Бактеріальний титр, млрд/г	Рекомендуєма доза внесення біоконсерванта, г/т	Рекомендуєма доза внесення бактерій, млрд/г
АМС, Алма-Ата	10×10^9	1,5	15
ПКБА, Алма-Ата	10×10^9	1,5	15
Лактокалдарін, Алма-Ата	10×10^9	1,5	15
БІОКОН, Сімферополь	100×10^{12}	10,0	10^6

Дані таблиці 2 свідчать, що біоконсервант «БІОКОН» перевершує аналогічні відомі силосні закваски Казахстану по бактеріальному титру майже в 10^5 разів.

Технологія готування біоконсерванта «БІОКОН»

1. Зерно ячменю промивають водопровідною водою від пилу і сміття в ємності для замочування.

2. Замочують промите зерно у водопровідній воді протягом 48 годин.

3. Набрякле зерно розсипають шаром 10 см, періодично ворують і обприскують водою до появи проростків приблизно через 3-4 доби.

4. У проросле зерно додають інокулянт - 3,0% від маси і перемішують.

5. Інокульоване проросле зерно пропускають через дробарку і заповнюють ємності.

6. Ємності з дробленим інокульованим пророслим зерном поміщають у термокамеру на 72 години при температурі 15-18°C.

7. Готовий біоконсервант в ємкостях поміщають на склад для збереження при температурі 15-18°C.

Низковитратна технологія готування дозволяє вносити до 10г біоконсерванта «БІОКОН», і, отже, більш ніж у 10^5 разів більше лактобактерій на 1 тону корму.

Звідси висока ефективність і надійність застосування біоконсерванта, виготовленого на середовищі «БІОКОН» при силосуванні і сенажуванні кормів.

З огляду на усе вищевикладене, можна зробити висновок, що задача, поставлена у винаході - створення нового трофічного середовища для вирощування штамів амілолітичного молочнокислого стрептокока *Streptococcus lactis* і молочної палички *Lactobacterium plantarum* з використанням пророщеного зерна ячменю як єдиного інгредієнту - вирішена з досягненням технічного результату - підвищенням кількості живих клітин лактобактерій на одиницю маси біоконсерванта, спрощення технології і здешевлення одержання кінцевого продукту - силосної бактеріальної закваски.