

Облікова картка дисертації

I. Загальні відомості

Державний обліковий номер: 0823U100639

Особливі позначки: відкрита

Дата реєстрації: 20-09-2023

Статус: Захищена

Реквізити наказу МОН / наказу закладу:



II. Відомості про здобувача

Власне Прізвище Ім'я По-батькові:

1. Кушнір Ірина Ігорівна

2. Iryna Kushnir

Кваліфікація:

Ідентифікатор ORCID ID: Не застосовується

Вид дисертації: доктор філософії

Аспірантура/Докторантура: так

Шифр наукової спеціальності: 204

Назва наукової спеціальності: Технологія виробництва і переробки продукції тваринництва

Галузь / галузі знань: аграрні науки та продовольство

Освітньо-наукова програма зі спеціальності: Аграрні науки та продовольство

Дата захисту: 14-11-2023

Спеціальність за освітою: Харчові технології

Місце роботи здобувача:

Код за ЄДРПОУ:

Місцезнаходження:

Форма власності:

Сфера управління:

Ідентифікатор ROR: Не застосовується

Сектор науки: Не застосовується

III. Відомості про організацію, де відбувся захист

Шифр спеціалізованої вченої ради (разової спеціалізованої вченої ради): ДФ 36.381.005

Повне найменування юридичної особи: Інститут сільського господарства Карпатського регіону Національної академії аграрних наук України

Код за ЄДРПОУ: 00496952

Місцезнаходження: вул. Грушевського, буд. 5, с. Оброшине, Пустомитівський р-н., 81115, Україна

Форма власності: Державна

Сфера управління: Національна академія аграрних наук України

Ідентифікатор ROR:

Сектор науки: Академічний

IV. Відомості про підприємство, установу, організацію, в якій було виконано дисертацію

Повне найменування юридичної особи: Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Гжицького

Код за ЄДРПОУ: 00492990

Місцезнаходження: вул. Пекарська, буд. 50, Львів, 79010, Україна

Форма власності: Державна

Сфера управління: Міністерство освіти і науки України

Ідентифікатор ROR:

Сектор науки: Університетський

V. Відомості про дисертацію

Мова дисертації: Українська

Коди тематичних рубрик: 65.63

Тема дисертації:

1. Розроблення заквашувального препарату із використанням мікроорганізмів роду *Enterococcus*, виділених із традиційної карпатської бринзи
2. Development of a starter preparation using microorganisms of *Enterococcus* isolated from traditional Carpathian cheese

Реферат:

1. Дисертаційна робота присвячена розробленню заквашувального препарату, виготовленого на основі молочнокислих бактерій (МКБ), виділених з природних еконіш і призначеного для виготовлення бринзи. На початковому етапі розроблення заквашувального препарату вивчали пробіотичні та технологічні властивості *E. durans*, SB6, *E. faecium* SB12, *E. durans* SB18 та *E. durans* SB20, виділених традиційної карпатської бринзи. Встановлено, що досліджувані штами ентерококів проявляли різну антагоністичну активність до умовно-

патогенної мікрофлори, зокрема, *E. coli*, *S. enteritidis*, *E. aerogenes*, *P. mirabilis*, *P. aeruginosa*, проте до грам-позитивних мікроорганізмів (*S. aureus*) антагоністичної дії не встановили. Із збільшенням температури культивування ентерококів (20, 30 і 37°C) зростала їх антагоністична активність. Зокрема, найоптимальнішою температурою культивування була 37°C. За таких умов штам *E. durans* SB18 проявив найбільш виражену антагоністичну активність до усіх досліджуваних грам-негативних мікроорганізмів, у тому числі *P. aeruginosa*. Досліджувані штами виявилися чутливими до широкого спектру антимікробних препаратів, за винятком гентаміцину, стрептоміцину, канаміцину та пеніцилінів. Важливо, що усі штами ентерококів були чутливими до ванкоміцину. За умови сумісного культивування ентерококів з умовно-патогенними мікроорганізмами виявили різний вплив на підвищення їх чутливості до антибіотиків. Наприклад, штами *E. faecium* SB12 та *E. durans* SB18 підвищували чутливість *S. aureus* до гентаміцину, відповідно, на 16,2 та 14,8%, а сумісне культивування *S. aureus* з ентерококами не впливало на зміну чутливості до амоксициліну. При цьому вираженіший вплив на зміну чутливості проявив штам *E. durans* SB18. Штам *E. durans* SB18 сприяв підвищенню чутливості *S. aureus* до ванкоміцину. Виділені з традиційної карпатської бринзи штами ентерококів у різних кількостях синтезували біологічно активні речовини. Встановлено, що штам *E. durans* SB18 синтезує найбільшу кількість амінокислот, зокрема, незамінні амінокислоти – лізин, третіонін та лейцин+ізолейцин, концентрація яких була вищою, відповідно, на 10,3, 39,5 ($p < 0,05$) та 5,8 %, а також замінні амінокислоти серин та гліцин, концентрація яких була, відповідно, на 30,0 та 16,2 % ($p < 0,01$) вищою порівняно до контролю. Ентерококи синтезували вітаміни групи B, з-посеред яких найбільше B1, концентрація якого збільшувалась від 8,5 до 10 разів ($p < 0,001$), у значних кількостях синтезують також вітаміни B3, та B5. Встановлено, що усі досліджувані штами продукували у незначній кількості оцтову та пропіонову кислоти, проте тільки штам *E. durans* SB18 був здатний до синтезу молочної кислоти, зокрема, її концентрація вірогідно підвищувалась у 2,6 рази ($p < 0,01$) порівняно до контролю. Токсико-біологічними дослідженнями встановлено, що досліджувані штами ентерококів не патогенні, не інфекційні, не володіють каталазою, не продукують лецитиназу, плазмокоагулазу та фібринолізин, що дає змогу віднести ці мікроорганізми до нешкідливих для макроорганізму. Досліджувані штами проявляли високі технологічні властивості, зокрема, штами *E. durans* SB20 та SB18 проявили найкращі кислотоуворювальні властивості, оскільки були здатними знижувати pH середовища при їх культивуванні як на 24 год, так і на 48 год за різних температурних режимів, при цьому значення pH сягало 5 одиниць і менше. Крім того, досліджувані ентерококи по-різному накопичували біомасу, при цьому відзначено як міжвидову, так і міжштамову різницю. Найвищу інтенсивність росту за температури культивування 37°C спостерігали при культивуванні штамів *E. durans* SB18 та SB6. Штами ентерококів проявили високу солестійкість. Ентерококи добре переносили несприятливі умови травного тракту, зокрема, виживали та розмножувались в умовах різних значень pH середовища та жовчі. Встановлено, що із досліджуваних чотирьох штамів ентерококів при показнику pH 4 два штами *E. durans* SB18 та *E. durans* SB20 виживали та проявляли добрі ростові властивості. При культивуванні штамів *E. durans* SB18 та *E. durans* SB20 за значення pH 5 оптична густина середовища була вищою, відповідно, у 9,8 та 10,8 рази ($p < 0,001$). Ці самі штами проявили найкращі ростові властивості і за pH 6 та 7 одиниць. За культивування досліджуваних штамів ентерококів у середовищі із 20 та 40% жовчі та високих концентрацій Натрію хлориду (від 3 до 6,5%), вони упродовж 21 доби зберігали свою життєздатність. Для створення заквашувального препаратів з метою надання готовому продукту функціональних властивостей було використано перспективні для промисловості культури молочнокислих бактерій *L. lactis* IMAU 32258, *Lb. plantarum* KLDS 1.0728 та *E. durans* SB18, виділені з традиційної карпатської бринзи і які характеризувалися високими антагоністичними та технологічними властивостями. На основі цих штамів розробили п'ять композицій МКБ у різних співвідношеннях *L. lactis*, *Lb. plantarum* і *E. durans*: № 1 (50:25:25), № 2 (33:33:33), № 3 (50:40:10), № 4 (50:10:40), № 5 (70:15:15).

2. The dissertation is devoted to the development of a starter preparation made on the basis of lactic acid bacteria (LAC) isolated from natural econishes and intended for the production of cheese. At the initial stage of development of the starter preparation, were studied the probiotic and technological properties of *E. durans* SB6, *E. faecium* SB12, *E. durans* SB18 and *E. durans* SB20 isolated from traditional Carpathian cheese. It was established

that the studied strains of enterococci showed different antagonistic activity to opportunistic microflora, in particular, *E. coli*, *S. enteritidis*, *E. aerogenes*, *P. mirabilis*, *P. aeruginosa*, but to the gram-positive microorganisms (*S. aureus*) antagonistic activity have not been established. As the temperature of cultivation of enterococci increased (20, 30 and 37°C), their antagonistic activity also increased. In particular, the most optimal cultivation temperature was 37°C. Under these conditions, the *E. durans* SB18 strain showed the most pronounced antagonistic activity against all tested gram-negative microorganisms, including *P. aeruginosa*. The studied strains were sensitive to a wide range of antimicrobial drugs, with the exception of gentamicin, streptomycin, kanamycin and penicillins. Importantly that all strains of enterococci were susceptible to vancomycin. Under conditions of simultaneous cultivation of enterococci with opportunistic microorganisms were found different effects on increasing their sensitivity to antibiotics. For example, strains of *E. faecium* SB12 and *E. durans* SB18 increased the sensitivity of *S. aureus* to gentamicin by 16,2 and 14,8%, respectively, and the co-cultivation of *S. aureus* with enterococcus did not affect the change in sensitivity to amoxicillin. At the same time, the *E. durans* SB18 strain showed a more pronounced effect on the change in sensitivity. The *E. durans* SB18 strain contributed to increasing the sensitivity of *S. aureus* to vancomycin. Strains of enterococci isolated from traditional Carpathian cheese in different quantities synthesized biologically active substances. It was established that the *E. durans* SB18 strain synthesizes the largest amount of amino acids, in particular, essential amino acids – lysine, trethionine and leucine + isoleucine, the concentration of which was higher, respectively, by 10,3, 39,5 ($p<0.05$) and 5,8%, and also non-essential amino acids serine and glycine, the concentration of which was, respectively, 30,0 and 16,2% ($p<0.01$) higher compared to the control. Enterococci synthesized vitamins of group B, among which vitamin B1 the most. The concentration of vitamin B1 increased from 8,5 to 10 times ($p<0.001$), vitamins B3 and B5 are also synthesized in significant quantities. It was found that all studied strains produced small amounts of acetic and propionic acids, but only the *E. durans* SB18 strain was capable to synthesize lactic acid, in particular, it's concentration probably increased by 2,6 times ($p<0.01$) compared to the control. Toxicological studies have established that the studied strains of enterococci are not pathogenic, not infectious, do not have catalase activity, do not produce lecithinase, plasma coagulase, and fibrinolysin, which makes it possible to classify these microorganisms as harmless to the macroorganism. The studied strains showed high technological properties, in particular, *E. durans* SB20 and SB18 strains showed the best acid-forming properties, as they were able to reduce the pH of the medium during their cultivation as on 24 h and 48 h under different temperature regimes, herewith the pH value reached 5 units and less. In addition, the investigated enterococci accumulated biomass in different ways, and also there were noted interspecies and interstrain differences. The highest growth intensity by the cultivation temperature of 37°C was observed in the cultivation of strains *E. durans* SB18 and SB6. Enterococci strains showed high salt resistance. Enterococci tolerated the adverse conditions of the digestive tract well, in particular, they survived and multiplied in conditions of different pH values of the environment and different concentration of bile. It was established that out of the four studied strains of enterococci at pH 4, two strains *E. durans* SB18 and *E. durans* SB20 survived and showed good growth properties. When *E. durans* SB18 and *E. durans* SB20 strains were cultivated at pH 5, the optical density of the medium was in 9.8 and 10.8 times higher, respectively ($p<0.001$). The same strains showed the best growth properties at pH 6 and 7 units. When the studied enterococci strains were cultivated in a medium with 20 and 40% bile and high concentrations of sodium chloride from 3 to 6.5%, they maintained their viability for 21 days.

Державний реєстраційний номер ДіР:

Пріоритетний напрям розвитку науки і техніки: Фундаментальні наукові дослідження з найбільш важливих проблем розвитку науково-технічного, соціально-економічного, суспільно-політичного, людського потенціалу для забезпечення конкурентоспроможності України у світі та сталого розвитку суспільства і держави

Стратегічний пріоритетний напрям інноваційної діяльності: Широке застосування технологій більш чистого виробництва та охорони навколишнього природного середовища

Публікації:

- The ability of enterococci extracted from traditional Carpathian cheese bryndza to produce biologically active substances / Kushnir I. I., Tsisaryk O. Y., Shalovylo S. H., Gutyj B. V., Kushnir G. V., Slyvka I. M., Musiy L. Y. Ukrainian Journal of Veterinary and Agricultural Sciences. 2020. Т. 3 (3). С. 15–19. DOI: <https://doi.org/10.32718/ujvas3-3.03>
- Інтенсивність росту та антибактеріальні властивості штамів *Enterococcus faecium* та *Enterococcus durans*, виділених із традиційної карпатської бринзи / Кушнір І. І., Цісарик О. Й., Сливка І. М., Мусій Л. Я., Кушнір І. М., Семен І. С. Науковий вісник ЛНУВМБ імені С. З. Гжицького. Серія: Сільськогосподарські науки. 2020. Т. 22, № 92. С. 42–49. DOI: <https://doi.org/10.32718/nlvvet-a9208>
- Кушнір І. І. Вивчення патогенних властивостей ентерококів виділених із карпатської бринзи. Науково-технічний бюлетень ДНДКІ ветеринарних препаратів та кормових добавок і інституту біології тварин. 2020. Вип. 21. № 1, С. 119–125. DOI: <https://doi.org/10.36359/scivp.2020-21-1.14>
- Властивості сформованих композицій пробіотичних штамів, виділених із карпатської бринзи / Кушнір І. І., Цісарик О. Й., Кушнір І. М., Семен І. С., Сливка І. М., Мусій Л. Я. Науковий вісник ЛНУВМБ імені С. З. Гжицького. Серія: Сільськогосподарські науки. 2020. Т. 22, № 93. С. 119–125. DOI: <https://doi.org/10.32718/nlvvet-a9320>
- Кушнір І. І. Вплив рН і різних концентрацій солі та жовчі на ріст ентерококів, виділених з природних еконіш. Збірник наукових праць «Технологія виробництва і переробки продукції тваринництва». 2020. № 2 (158). С. 76–81. DOI: <https://doi.org/10.33245/2310-9289-2020-158-2-76-81>
- Кушнір І. І., Цісарик О. Й. Вплив розробленої композиції молочнокислих бактерій, виділених із карпатської бринзи, на організм лабораторних тварин. Науковий вісник ЛНУВМБ імені С. З. Гжицького. Серія: Сільськогосподарські науки. 2021. Т. 23, № 94. С. 9 – 15. DOI: <https://doi.org/10.32718/nlvvet-a9402>
- Цісарик О. Й., Кушнір І. І. Вміст ліпідів печінки щурів за дії композиції молочнокислих бактерій, виділених із традиційної карпатської бринзи. Ветеринарія, технології тваринництва та природокористування. 2021. № 7. С. 167–173. DOI: <https://doi.org/10.31890/vtpp.2021.07.26>
- Вплив ентерококів на чутливість умовно-патогенної мікрофлори до антибіотиків / Кушнір І. І., Семен І. С., Цісарик О. Й., Кушнір І. М. Науковий вісник ЛНУВМБ імені С. З. Гжицького. Серія: Сільськогосподарські науки. 2021. Т. 23, № 95. С. 25–28. DOI: <https://doi.org/10.32718/nlvvet-a9503>
- Технологія виготовлення бринзи з коров'ячого молока із застосуванням заквашувального препарату «Ентероплан» / Кушнір І. І., Цісарик О. Й., Кушнір І. М., Скульська І. В. Науковий вісник ЛНУВМБ імені С.З. Гжицького. Серія: Сільськогосподарські науки. 2022. Т. 24, № 96. С. 9–15. DOI: <https://doi.org/10.32718/nlvvet-a9602>
- Kushnir I. I., Tsisaryk O. Y. Antioxidant system of rats by the influence of composition of bacteria isolated from traditional carpathian cheese bryndza. Poland, Colloquium-journal. 2021. № 7 (94). P. 27–30. DOI: [10.24412/2520-6990-2021-794-27-29](https://doi.org/10.24412/2520-6990-2021-794-27-29)
- Antagonistic activity of strains of lactic acid bacteria isolated from Carpathian cheese / Musiy L. Y., Tsisaryk O. Y., Slyvka I. M., Kushnir I. I. Regulatory Mechanisms in Biosystems. 2020. Vol. 11, № 3. P. 572–578. DOI: <https://doi.org/10.15421/02201104>
- Identification and investigation of properties of strains *Enterococcus* spp. isolated from artisanal Carpathian cheese / Slyvka I., Tsisaryk O., Musii L., Kushnir I., Kozirowcki M., Kozirowcka A. Biocatalysis and Agricultural Biotechnology. 2022. Vol. 39, P. 102259. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2021.102259>
- Кушнір І. І., Цісарик О. Й., Кушнір І. М., Сливка І. М., Гутий Б. В., Кушнір В. І., Семен І. С. Спосіб визначення штамів ентерококів для створення пробіотичної закваски: пат. 149039 Україна: МПК А23С 9/13 (2006.01), С12N 1/20 (2006/01). u202101868; заявл. 09.04.2021; опубл. 13.10.2021, Бюл. № 41. 5 с. <https://iprop-ua.com/inv/pdf/x78u4qqt-pub-description.pdf>

- Цісарик О. Й., Кушнір І. І. Препарат заквашувальний «Ентероплан». Технічні умови ТУ У 10.5-00492990-028:2021. 22 с.
- Визначення вмісту амінокислот у продуктах життєдіяльності молочнокислих бактерій методом капілярного електрофорезу (методичні рекомендації) / І. Я. Коцюмбас, Т. Р. Левицький, І. І. Кушнір, Г. П. Ривак, Г. В. Кушнір, Б. І. Назар, Г. Ю. Федор, О. М. Вільха, Т. І. Шарій, Г. Ю. Неділька. ДНДКІ ветеринарних препаратів та кормових добавок, Львів. 2020. 24 с.

Наукова (науково-технічна) продукція:

Соціально-економічна спрямованість:

Охоронні документи на ОПІВ:

Впровадження результатів дисертації: Впровадження не планується

Зв'язок з науковими темами:

VI. Відомості про наукового керівника/керівників (консультанта)

Власне Прізвище Ім'я По-батькові:

1. Цісарик Оріся Йосипівна
2. Orysia Y. Tsisaryk

Кваліфікація: д.с.-г.н., професор, 03.00.04

Ідентифікатор ORCID ID: Не застосовується

Додаткова інформація:

Повне найменування юридичної особи: Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Гжицького

Код за ЄДРПОУ: 00492990

Місцезнаходження: вул. Пекарська, буд. 50, Львів, 79010, Україна

Форма власності: Державна

Сфера управління: Міністерство освіти і науки України

Ідентифікатор ROR:

Сектор науки: Університетський

VII. Відомості про офіційних опонентів та рецензентів

Офіційні опоненти

Власне Прізвище Ім'я По-батькові:

1. Швед Ольга Василівна
2. Olha Shved

Кваліфікація: к. х. н., доц., 02.00.03

Ідентифікатор ORCID ID: Не застосовується

Додаткова інформація:

Повне найменування юридичної особи: Національний університет "Львівська політехніка"

Код за ЄДРПОУ: 02071010

Місцезнаходження: вул. Степана Бандери, буд. 12, Львів, 79013, Україна

Форма власності: Державна

Сфера управління: Міністерство освіти і науки України

Ідентифікатор ROR:

Сектор науки: Університетський

Власне Прізвище Ім'я По-батькові:

1. Покотило Олег Степанович

2. Oleg Pokotylo

Кваліфікація: д. б. н., професор, 03.00.04

Ідентифікатор ORCID ID: Не застосовується

Додаткова інформація:

Повне найменування юридичної особи: Тернопільський національний технічний університет імені Івана Пулюя

Код за ЄДРПОУ: 05408102

Місцезнаходження: вул. Руська, буд. 56, Тернопіль, Тернопільський р-н., 46001, Україна

Форма власності: Державна

Сфера управління: Міністерство освіти і науки України

Ідентифікатор ROR:

Сектор науки: Університетський

Рецензенти

Власне Прізвище Ім'я По-батькові:

1. Чумаченко Сергій Петрович

2. Sergiy P. Chumachenko

Кваліфікація: к. с.-г. н., с.н.с., 06.02.02

Ідентифікатор ORCID ID: Не застосовується

Додаткова інформація:

Повне найменування юридичної особи: Інститут сільського господарства Карпатського регіону Національної академії аграрних наук України

Код за ЄДРПОУ: 00496952

Місцезнаходження: вул. Грушевського, буд. 5, с. Оброшине, Пустомитівський р-н., 81115, Україна

Форма власності: Державна

Сфера управління: Національна академія аграрних наук України

Ідентифікатор ROR:

Сектор науки: Академічний

Власне Прізвище Ім'я По-батькові:

1. Федак Наталія Миколаївна

2. Natalia M. Fedak

Кваліфікація: к. б. н., с.н.с., 03.00.13

Ідентифікатор ORCID ID: Не застосовується

Додаткова інформація:

Повне найменування юридичної особи: Інститут сільського господарства Карпатського регіону
Національної академії аграрних наук України

Код за ЄДРПОУ: 00496952

Місцезнаходження: вул. Грушевського, буд. 5, с. Оброшине, Пустомитівський р-н., 81115, Україна

Форма власності: Державна

Сфера управління: Національна академія аграрних наук України

Ідентифікатор ROR:

Сектор науки: Академічний

VIII. Заключні відомості

**Власне Прізвище Ім'я По-батькові
голови ради**

Вовк Стах Осипович

**Власне Прізвище Ім'я По-батькові
головуючого на засіданні**

Вовк Стах Осипович

**Відповідальний за підготовку
облікових документів**

Іра Кушнір

Реєстратор

УкрІНТЕІ

**Керівник відділу УкрІНТЕІ, що є
відповідальним за реєстрацію наукової
діяльності**



Юрченко Тетяна Анатоліївна