

УДК:619: 639.2.09; 639.3.09

ГРИНЕВИЧ Н. Є., канд. вет. наук

[gmatbc@ukr.net](mailto:gmatbc@ukr.net)

Білоцерківський національний аграрний університет

КУХТИН М. Д., д-р вет. наук

[kuchtynnic@gmail.com](mailto:kuchtynnic@gmail.com)

Тернопільський національний технічний університет ім. І. Пулюя

## МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧНИЙ АНАЛІЗ СКЛАДУ МІКРОФЛОРИ ВОДИ БІОФІЛЬТРА В УСТАНОВКАХ ЗАМКНУТОГО ВОДОПОСТАЧАННЯ

Метою роботи було провести секвенування сДНК мікрофлори води біофільтра та порівняння 16S рДНК і 16S РНК клонів, наявних у бібліотечній базі. Ідентифіковано 11 бактеріальних філотипів. Встановлено, що більша частина секвенованих клонів належала до філотипу *Gamma*proteobacteria – 56,7 %. 12,2 % припадало на клас *Alphaproteobacteria*. Частка філотипу *CFB* становила 8,88 %, що в 6,4 разів ( $p < 0,05$ ) менше, ніж *Gamma*proteobacteria і в 1,5 рази ( $p < 0,05$ ) ніж *Alphaproteobacteria*. Частка решти філотипів такі як *Nitrospirae*, *Betaproteobacteria*, *Planctomycetes*, *Deltaproteobacteria*, *Uncultured bacterium Verrucomicrobia*, *Firmicutes* не перевищувала 6 %, і найменш чисельним був філо-тип *Actinobacteria* – 0,5 %.

Отже, молекулярно-генетичні дослідження дали змогу виявити, найбільш поширені й стабільні класи і роди бактерій, які формують активний нормомікробіоценоз у реакторі біофільтра за вирощування райдужної форелі.

**Ключові слова:** установки замкнутого водопостачання, райдужна форель, біофільтр, мікрофлора, секвенування.

**Постановка проблеми, аналіз останніх досліджень і публікацій.** На сьогодні час Євросоюзом визнається екологічно чистою тільки та рибна продукція, яка вирощена в УЗВ [4]. Розведення райдужної форелі в УЗВ належать до вищої форми індустріального рибництва і представляє собою інтенсивну систему контрольованого та керованого вирощування риби [1, 5]. Основною відмінністю вирощування райдужної форелі в УЗВ, порівняно із вирощуванням на відкритій воді, є обмежена територія на якій має одночасно забезпечуватися сприятливі умови для росту риби і роботи системи очищення оборотної води [7]. Важливу роль у цих процесах виконує мікрофлора, яка представляє біоценози, що формуються у різних біотопах УЗВ [2]. Вона бере активну участь в регенерації оборотної води і є активною невід'ємною частиною біологічного фільтра, у якому біологічна плівка перебуває в прикріпленому виді або у вигляді активного мулу [6].

Молекулярно-генетичні методи вважають найбільш точними і достовірними для ідентифікації наявної мікрофлори, яка формує біоценоз і проявляє нітрифікуючу функцію. Тому поряд із класичними рутинними методами нами було досліджено воду реактора біофільтра за використання молекулярно-генетичних методів, зокрема за допомогою методу ПЛР (полімеразної ланцюгової реакції) з метою ідентифікації наявної мікрофлори, яка формує біоценоз і проявляє нітрифікуючу функцію.

**Метою роботи** було провести секвенування сДНК мікрофлори води біофільтра та порівняння 16S рДНК і 16S РНК клонів, наявних у бібліотечній базі.

**Матеріал і методи досліджень.** Дослідження проводили у повносистемному форелевому господарстві СТОВ Східноукраїнський центр розведення цінних видів риб „МЖА„. Матеріалом для вивчення мікрофлори УЗВ за розведення райдужної форелі (*Oncorhynchus mykiss*) слугували проби відібрані із основних біотопів УЗВ. Було проведено секвенування сДНК мікрофлори води біофільтра та порівняння 16S рДНК і 16S РНК клонів, наявних у бібліотечній базі [3]. Зокрема було ідентифіковано 11 бактеріальних філотипів.

**Основні результати досліджень.** Результати досліджень наведено на рисунку 1.

Як видно з рисунка 1, більша частина секвенованих клонів належала до філотипу *Gamma*proteobacteria – 56,7 %. 12,2 % припадало на клас *Alphaproteobacteria*. Частка філотипу *CFB* становила 8,88 %, що в 6,4 разів ( $p < 0,05$ ) менше, ніж *Gamma*proteobacteria і в 1,5 рази ( $p < 0,05$ ) ніж *Alphaproteobacteria*. Частка решти філотипів таких як *Nitrospirae*, *Betaproteobacteria*, *Planctomycetes*, *Deltaproteobacteria*, *Uncultured bacterium Verrucomicrobia*, *Firmicutes* не перевищувала 6 %, і найменш чисельним був філо-тип *Actinobacteria* – 0,5 %. Значне переважання представників філотипу *Gamma*proteobacteria, на нашу думку, пов'язано з тим, що до нього входить декілька великих родин (*Enterobacteriaceae*, *Vibrionaceae*, *Pseudomonadaceae* та ін.), які широко розпо-

всюджені в навколишньому середовищі – в ґрунті, на рослинах, деревах, у воді, і закономірно формують мікрофлору води реактора біофільтра.

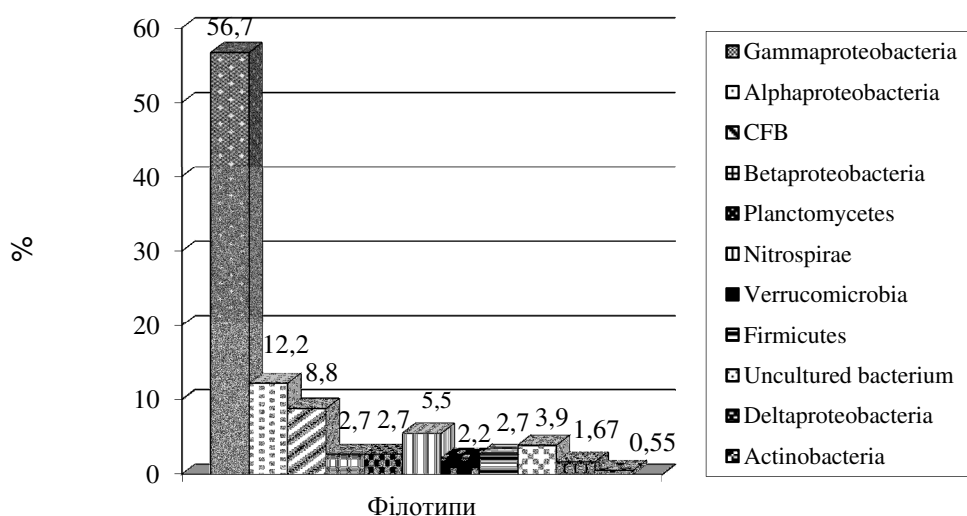


Рис. 1. Поширення секвенованих сДНК бактеріальних філотипів у воді реактора біофільтра за вирощування райдужної форелі

У таблиці 1 наведено дані з виявлення і розподілу клонів за філотипами.

Таблиця 1 – Філотипічна характеристика мікрофлори води реактора біофільтра

Мікроорганізми з генетичного банку (бібліотечні коди)	Представник ізольованих клонів	Спорідненість, %	Кількість клонів
1	2	3	4
<b>I Alphaproteobacteria</b>			
<i>Roseobacter</i> sp. (AB257326)	сДНК 47	98	4
<i>Roseovarius aestuarii</i> (EU156066)	сДНК 48	98	4
<i>Prosthecomicrobium</i> sp. ATCC 27833 (GQ221767)	сДНК 6	87	1
<i>Sinorhizobium</i> sp. enrichment culture clone Van49 (HQ222284)	сДНК 24	95	1
<i>Mesorhizobium</i> sp. BA151 (EU748911)	сДНК 24	95-97	4
<i>Hyphomicrobium</i> sp. Ellin112 (AF408954)	сДНК 25	94	1
<i>Alpha proteobacterium</i> C32 (AB302373)	сДНК 14	92-98	7
<b>II Betaproteobacteria</b>			
<i>Nitrosomonas</i> sp. (AJ296605)	сДНК 2	96-98	5
<b>III Gammaproteobacteria</b>			
<i>Alkalispirillum</i> sp. ACO5 (FJ976681)	сДНК 45	95	1
<i>Coxiella burnetii</i> (D89792)	сДНК 11	92-94	3
<i>Cronobacter turicensis</i> (EF059863)	сДНК 23	90	1
<i>Ectothiorhodospira imhoffii</i> (AM902494)	сДНК 29	90-92	8
<i>Glaciecola</i> sp. 105 (AB238790)	сДНК 28	95-98	4
<i>Pseudomonas stutzeri</i> (AJ270453)	сДНК 49	99	10
<i>Vibrio alginolyticus</i> (AB497062)	сДНК 40	96-98	3
<i>Vibrio campbellii</i> (NR_029222)	сДНК 36	97	1
<i>Vibrio gigantis</i> (JF836190)	сДНК 32	96-100	5
<i>Vibrio mediterranei</i> (HM031977)	сДНК 27	95-97	2
<i>Vibrio lentus</i> (AY292927)	сДНК 37	97	1
<i>Vibrio rotiferianus</i> (JF907572)	сДНК 41	99	1
<i>Vibrio shilonii</i> (JN039144)	сДНК 34	98	1
<i>Vibrio splendidus</i> (JF836193)	сДНК 43	96-99	2
<i>Vibrio</i> sp. JZ08ML73 (HM117132)	сДНК 30	95-100	25
<i>Gamma proteobacterium</i> N2yML2 (EF629832)	сДНК 15	96-100	27
<i>Uncultured bacterium clone</i> 15 (JN157650)	сДНК 10	93-100	8
<b>IV Deltaproteobacteria</b>			
<i>Nannocystis exedens</i> (DQ491074)	сДНК 18	95	3
<b>V Nitrospirae</b>			
<i>Nitrospira marina</i> (HQ686084)	сДНК 3	94-98	10

Продовження табл. 1

1	2	3	4
<b>VI CFB</b>			
<i>Algibacter</i> sp. J13-26 (GU949539)	сДНК 9	97	1
<i>Bacteroidetes bacterium</i> ArSB (AB539997)	сДНК 16	82-90	5
<i>Flexibacteraceae bacterium</i> DG1232 (DQ486479)	сДНК 5	90-97	3
<i>Flavobacteriaceae bacterium</i> scsio713 (JN116829) <i>Maribacter</i> sp. YA2 (JF751049)	сДНК 8сДНК 26 сДНК 38	95-9895 93-97	51 2
<i>Reichenbachiella</i> sp. YMK (AB540004)			
<b>VII Planctomycetes</b>	сДНК 50	92-95	3
<i>Pirellula</i> sp. ( X81943)	сДНК 7	95	2
<i>Planctomycete</i> A-2 (AM056027)			
<b>VIII Verrucomicrobia</b>	сДНК 17	90-95	4
<i>Verrucomicrobium</i> sp. KLE1210 (GQ262724)			
<b>IX Actinobacteria</b>	сДНК 21	97	1
<i>Actinobacterium</i> CN30_ LM100 (FN554443)			
<b>X Firmicutes</b>	сДНК 33	96-99	5
Uncultured marine bacterium (GU326794)			
<b>XI Uncultured bacterium</b>	сДНК 13	89-98	7
Uncultured bacterium clone DSJB94 (DQ499222)			

Із таблиці 1 видно, що було секвеновано 182 клони, які віднесено до 11 філотипів. Основну частину серед виявлених клонів становили бактерії роду *Vibrio* sp. – 22,5 % та *Gamma proteobacterium* – 14,8 %. Це пояснюється тим, що ці мікроорганізми становлять симбіотичну мікрофлору води і поверхні риби, не зважаючи на те, що серед представників роду *Vibrio* є патогенний вид *V. anguillarum*, який спричиняє септицемію форелі. Частка основних родів і видів бактерій, які беруть участь у процесах нітрифікації і денітрифікації, зокрема *Nitrosomonas* sp., *Nitrospira* sp., *Pseudomonas stutzeri*, становила 13,7 %. Інші ідентифіковані види бактерій були поділені, рівномірно між виявленими родами.

Отже, проведені молекулярно-генетичні дослідження дали змогу виявити, виявили найбільш поширені й стабільні класи і роди бактерій, які формують активний нормомікробіоценоз у реакторі біофільтра за вирощування райдужної форелі. Загалом мікрофлору реактора біофільтра необхідно розглядати як біоценоз, в якому роди і види бактерій існують разом не випадково, а сформовані в результаті дії комплексу екологічних і антропогенних факторів під час запуску і функціонування УЗВ. Ми вважаємо, що мікробні види необхідно розглядати як своєрідні інформаційні системи, які сповіщають про зміну в навколишньому середовищі, зокрема в мікробіоценозі біофільтра. У даному випадку порушення мікробіоценозу буде негативно впливати на нітрифікуючу функцію реактора біофільтра. Визначення і оцінювання ролі окремих груп мікроорганізмів у такому біотопі як реактор біофільтра. Моніторинг складу його мікробних популяцій мають важливе екологічне значення.

**Висновки.** 1. Встановлено, що більша частина секвенованих клонів належала до філотипу *Gamma proteobacteria* – 56,7 %. 12,2 % припадало на клас *Alphaproteobacteria*. Частка філотипу *CFB* становила 8,88 %, що в 6,4 разів менше, ніж *Gamma proteobacteria* і в 1,5 рази, ніж *Alphaproteobacteria*. Частка решти філотипів таких як *Nitrospirae*, *Betaproteobacteria*, *Planctomycetes*, *Deltaproteobacteria*, *Uncultured bacterium Verrucomicrobia*, *Firmicutes* не перевищувала 6 %, і найменш чисельним був філо-тип *Actinobacteria* – 0,5 %.

2. Секвеновано 182 клони, які віднесено до 11 філотипів. Основну частину серед виявлених клонів становили бактерії роду *Vibrio* sp. – 22,5 % та *Gamma proteobacterium* – 14,8 %. Частка основних родів і видів бактерій, які беруть участь у процесах нітрифікації і денітрифікації, зокрема *Nitrosomonas* sp., *Nitrospira* sp., *Pseudomonas stutzeri*, становила 13,7 %.

У подальшому планується проведення дослідження щодо вивчення нітрифікуючої здатності у виділених мікроорганізмів.

#### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Eding E.H., and Kamstra, A. (2002), "Netherlands farms tune recirculation systems to production of varied species", *Global Aquaculture Advocate*, Vol. 5, pp. 52–54.
2. Good C., Davidson J., Welsh C., Brazil B., Snekvik K. and Summerfelt, S. (2009), "The impact of water exchange rate on the health and performance of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* in water recirculation aquaculture systems", *Aquaculture*, Vol. 294, pp. 80–85.

3. Hoffmann M., Brown E.W., Feng P.C.H., Keys C.E., Fischer M. and Monday, S.R. (2010), "PCR-based method for targeting 16S-23S rRNA intergenic spacer regions among *Vibrio* species", *BMC Microbiology*, Vol. 10, P. 90.
4. Hishamunda N. and Ridler N. (2011), "Policy and governance in aquaculture: lessons learned and way forward". FAO Fisheries and Aquaculture Technical Paper №. 555. Rome, FAO.
5. Hardy R.W., Fornshell G.C.G. and Brannon. E.L. (2000), "Rainbow trout culture". In R.R. Stickney, (Ed), *Encyclopedia of Aquaculture*. John Wiley & Sons, New York, NY. 716–722.
6. Harold J., Schreier N. and Keiko, S. (2010), "Microbial diversity of biological filters in recirculating aquaculture systems", *Current Opinion in Biotechnology*, Vol. 21, pp. 1–8.
7. Itoi S., Ebihara N., Washio S. and Sugita, H. (2007), "Nitrite-oxidizing bacteria, *Nitrospira*, distribution in the outer layer of the biofilm from filter materials of a recirculating water system for the goldfish *Carassius auratus*", *Aquaculture*, Vol. 264, pp. 297–308.

#### REFERENCES

1. Eding E.H., and Kamstra, A. (2002). Netherlands farms tune recirculation systems to production of varied species, *Global Aquaculture Advocate*, Vol. 5, pp. 52–54.
2. Good C., Davidson J., Welsh C., Brazil B., Snekvik K. and Summerfelt, S. (2009). The impact of water exchange rate on the health and performance of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* in water recirculation aquaculture systems, *Aquaculture*, Vol. 294, pp. 80–85.
3. Hoffmann M., Brown E.W., Feng P.C.H., Keys C.E., Fischer M. and Monday, S.R. (2010). PCR-based method for targeting 16S-23S rRNA intergenic spacer regions among *Vibrio* species, *BMC Microbiology*, Vol. 10, 90 p.
4. Hishamunda N. and Ridler N. (2011). Policy and governance in aquaculture: lessons learned and way forward. FAO Fisheries and Aquaculture Technical Paper No. 555. Rome, FAO.
5. Hardy R.W., Fornshell G.C.G. and Brannon. E.L. (2000). Rainbow trout culture. In R.R. Stickney, (Ed), *Encyclopedia of Aquaculture*. John Wiley & Sons, New York, NY. pp. 716–722.
6. Harold J., Schreier N. and Keiko, S. (2010). Microbial diversity of biological filters in recirculating aquaculture systems, *Current Opinion in Biotechnology*, Vol. 21, pp. 1–8.
7. Itoi S., Ebihara N., Washio S. and Sugita, H. (2007). Nitrite-oxidizing bacteria, *Nitrospira*, distribution in the outer layer of the biofilm from filter materials of a recirculating water system for the goldfish *Carassius auratus*, *Aquaculture*, Vol. 264, pp. 297–308.

#### Молекулярно-генетический анализ состава микрофлоры воды биофильтров в установках замкнутого водоснабжения

Грыневич Н. Е., Кухтын М. Д.

Целью работы было провести секвенирование с ДНК микрофлоры воды биофильтра и сравнения 16S гДНК и 16S РНК клонов, имеющих в библиотечном базе. Идентифицировано 11 бактериальных фило-типов. Установлено, что большая часть секвенирован клонов принадлежала к фило-типу *Gammaproteobacteria* - 56,7%. 12,2% приходилось на класс *Alphaproteobacteria*. Доля фило-типу *CFB* составила 8,88%, что в 6,4 раз ( $p < 0,05$ ) меньше, чем *Gammaproteobacteria* и в 1,5 раза ( $p < 0,05$ ), чем *Alphaproteobacteria*. Доля остальных фило-типов такие как *Nitrospirae*, *Betaproteobacteria*, *Planctomycetes*, *Deltaproteobacteria*, *Uncultured bacterium* *Verrucomicrobia*, *Firmicutes* не превышала 6%, и менее многочисленным был фило-тип *Actinobacteria* - 0,5%.

Итак, молекулярно-генетические исследования позволили выявить наиболее распространенные и стабильные классы и роды бактерий, которые формируют активный нормомикробиоценоз в реакторе биофильтра за выращивание радужной форели.

**Ключевые слова:** установки замкнутого водоснабжения, радужная форель, биофильтр, микрофлора, секвенирование.

#### Molecular-genetic analysis of the microflora composition of water of biofilter in rsa

Grynevych N., Kukhtyn M.

The main difference in the growth of rainbow trout in RSA, as opposed to growing on open water, is a limited area, which at the same time should provide favorable conditions for the growth of fish and the operation of the system of treatment of reversible water. An important role in these processes is performed by the microflora, which represents the biocenoses formed in different biotopes of the RSA (Recirculating aquaculture system). It takes an active part in the regeneration of reversible water and is an active integral part of the biological filter in which the biological film is in the attached form or in the form of active sludge. Molecular genetic methods are considered to be the most accurate and reliable for the identification of the available microflora, which forms biocenosis and shows a nitrification function. Therefore, along with the classical routine methods, we examined the water of the biofilter reactor using molecular genetic methods, in particular by using the *polymerase chain reaction* (PCR) method to identify the available microflora that forms biocenose and exhibits a nitrification function.

The purpose of the work was to sequence cDNA of the microflora of the biofilters of the closed water supply system and compared the 16S rDNA and 16S RNA clones available in the library base.

Materials and methods. The amplification of 16S cDNA was performed using PCR (Michaud et al., 2009). They were performed using the ABI 9600 (Applied Biosystems) thermal cycler using the front primer 27F (5'-AGA GTT TGA TCC TGG CTC AG-3') and 1492R (5'-GGT TAC CTT GTT ACG ACT T-3'). PCR was performed in a mixture of 50 µl (total volume) containing 1 × Q solution (Qiagen), 10 × Qiagen reaction buffer, 1 µM of each specimen, 10 µM of dNTPs (Fermentas), 50 ng of cDNA matrix and 2.0 U Taq Polymerase (Qiagen). The PCR program included the following steps: 3 minutes at 95 °C, then 30 cycles for 1 min. at 94 °C, 1 min at 50 °C, 2 min. at 72 °C and complete prolongation for 10 min. at a temperature of 72 °C.

11 bacterial phytopaths were identified. It was found that most of the sequenced clones belonged to the *Gammaproteobacteria* phylotype - 56.7%. 12.2% belonged to the *Alphaproteobacteria* class. The share of the *CFB* phylotype was 8.88%, which is 6.4 times

( $p < 0.05$ ) less than Gammaproteobacteria and 1.5 times ( $p < 0.05$ ) than Alphaproteobacteria. The share of the remaining filotypes such as Nitrospirae, Betaproteobacteria, Planctomycetes, Deltaproteobacteria, Uncultured bacterium Verrucomicrobia, Firmicutes did not exceed 6 %, and the smallest number was the filo type of Actinobacteria - 0.5 %. In our opinion, a significant predominance of representatives of the Gammaproteobacteria filotype is due to the fact that it includes several large families (Enterobacteriaceae, Vibrionaceae, Pseudomonadaceae, etc.) that are widespread in the environment - in the soil, on plants, trees, in water, and naturally form the microflora of the water of the biofilter reactor.

It has been established that 182 clones were sequenced, which belonged to 11 phylotypes. The major part among the detected clones was bacteria of the genus *Vibrio* spp. - 22.5 % and Gamma proteobacterium - 14.8 %. This is due to the fact that these microorganisms form a symbiotic microflora of water and the surface of the fish, despite the fact that among the representatives of the genus *Vibrio* is the pathogenic form of *V. anguillarum*, which causes septicemia of trout. The share of the main genera and species of bacteria involved in the processes of nitrification and denitrification, in particular *Nitrosomonas* spp., *Nitrospira* spp., *Pseudomonas stutzeri*, was 13.7 %. Other identified types of bacteria were divided evenly between identified genus.

Consequently, the conducted molecular genetic studies made it possible to detect, found the most common and stable classes and species of bacteria that form active normomicrobiocenosis in the biofilter reactor for growing rainbow trout. In general, the microflora of the biofilter reactor should be considered as biocenosis, in which the genera and species of bacteria are not accidental together, but formed as a result of the complex of environmental and human factors during the startup and operation of the ultrasound. We believe that microbial species should be considered as peculiar informational systems that report changes in the environment, in particular, in microbiological biofilter. In this case, the violation of microbiocenosis will negatively affect the nitrification function of the biofilter reactor. Determination and evaluation of the role of individual groups of microorganisms in such a biotope as a biofilter reactor. Monitoring of the composition of its microbial populations has an important ecological significance.

**Key words:** RSA, rainbow trout, biofilter, microflora, sequencing, *polymerase chain reaction*.

Надійшла 16.05.2018.

УДК 613.287:615.076.9:637.116

САЛАТА В.З., канд. вет. наук  
salatavolod@ukr.net

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

### ОЦІНКА М'ЯСА ЯЛОВИЧИНИ НА НАЯВНІСТЬ ЗЕРАНОЛУ – СТИМУЛЯТОРА РОСТУ ЖУЙНИХ ТА ВПЛИВ ТЕХНОЛОГІЇ ЗБЕРІГАННЯ НА ЙОГО ВМІСТ

Метою роботи було дослідити наявність зеранолу – стимулятора росту жуйних у яловичині, яка надходить на забійні цехи Тернопільської і Львівської областей та визначити вплив холодильного зберігання м'яса на його вміст.

Встановлено, що в середньому 36 % проб яловичих туш, що надходять на переробку, містили стимулятор приросту маси жуйних – синтетичний стимулятор-анаболік зеранол, тобто нижче межі виявлення зеранолу 0,062 мкг/кг. Встановлено, що кількісний вміст зеранолу в яловичині після 16 добового зберігання за температури +2...+4 °С в холодильнику не призводить до його зменшення. Тому, метод охолодження для зниження кількості зеранолу виявився неефективним.

Проведено дослідження з визначення впливу заморожування за температури –20 °С і терміну зберігання яловичини упродовж 4 міс. на вміст зеранолу. Встановлено, що повністю знизити кількість зеранолу в м'ясі не вдається, проте його кількість значно зменшується в процесі заморожування. Якщо охарактеризувати зміни м'яса яловичини I групи, то через один місяць заморожування від початку досліджень, вміст зеранолу в м'ясі зменшився на 16,3 %. Через 1,5 місяця кількість зеранолу зменшилася на 22,8 %, до початку досліджу. Через 2 місяці на 24 % і через 3 місяці на 26,4 %. М'ясо яловичини II групи також характеризувалося зменшенням кількості зеранолу: через 1 місяць від початку дослідження його кількість зменшилася на 18,4 %, через 1,5 місяці на – 25,1 % до початку досліджу. Через два місяці дослідження кількість зеранолу, порівняно до початку досліджу зменшилася на 28,5 %, а через три місяці вміст зеранолу у даному зразку зменшився на 29 %. Для зниження кількості зеранолу у яловичині запропоновано альтернативний метод – це заморожування до – 20 °С і зберігання не менше двох місяців.

Отже, рекомендується проводити вибірковий контроль та відбір м'яса яловичини на м'ясопереробних підприємствах для встановлення показників безпечності, а саме вмісту зеранолу.

**Ключові слова:** яловичина, стимулятор росту, тест-система, зеранол, безпечність, заморожування, зберігання.

**Постановка проблеми, аналіз останніх досліджень і публікацій.** Нині усе частіше в продуктах харчування використовують зареєстровані, дозволені і недозволені харчові домішки, які значно знижують їх вартість, зате підвищують тривалість їх зберігання роблять зовнішній вигляд привабливішим для покупця. При цьому знижується поживна цінність продукції, а за всі ці переваги споживачі платять своїм здоров'ям [3, 4]. Для збільшення виробництва продукції та