

УДК 57.083.1:[579.864+579.873.1]:546.33'234

КУЛЬТИВУВАННЯ БІФІДО- І ЛАКТОБАКТЕРІЙ В СЕРЕДОВИЩАХ З НАТРИЮ СЕЛЕНІТОМ

Л. В. Капрельянц, доктор технічних наук, професор*, E-mail: leonid@onaft.edu.ua
О. О. Лівенцова, кандидат технічних наук, доцент**, E-mail: liventsova helen@mail.ru

Н. С. Третуб, аспірант*, E-mail: natashenka.tregub@mail.ru
*Кафедра біохімії, мікробіології та фізіології харчування
**Кафедра харчової хімії

Одесська національна академія харчових технологій, вул. Канатна, 112, Одеса, Україна, 65039

Анотація. У статті наведено дані щодо актуальності створення нових альтернативних джерел органічних форм селену. Описано здатність мікроорганізмів до біотрансформації селену. Наведено дані стосовно впливу концентрацій натрію селеніту на приріст біомаси лакто- і біфідобактерій. Визначено, що підвищені концентрації натрію селеніту пригнічують рост мікроорганізмів. Основними показниками, що характеризують накопичення біомаси були значення оптичної щільності середовища культивування та кількість колонієутворюючих одиниць мікроорганізмів. Підтверджено здатність до біотрансформації неорганічних форм селену дослідженнями мікроорганізмами в процесі їх культивування. За допомогою флуориметричного методу визначено кількісний вміст біотрансформованого селену.

Ключові слова: лактобактерії, біфідобактерії, пробіотики, натрію селеніт, оптична щільність.

КУЛЬТИВИРОВАНИЕ БИФІДО- И ЛАКТОБАКТЕРІЙ В СРЕДАХ С НАТРИЯ СЕЛЕНІТОМ

Л. В. Капрельянц, доктор технических наук, профессор*, E-mail: leonid@onaft.edu.ua
Е. О. Ливенцова, кандидат технических наук, доцент**, E-mail: liventsova helen@mail.ru

Н. С. Третуб, аспирант*, E-mail: natashenka.tregub@mail.ru
*Кафедра биохимии, микробиологии и физиологии питания
**Кафедра пищевой химии

Одесская национальная академия пищевых технологий, ул. Канатная, 112, Одесса, Украина, 65039

Аннотация. В статье приведены данные касающиеся актуальности производства новых альтернативных источников органических форм селена. Описана способность мікроорганізмів біотрансформації селену. Приведены данные о влиянии концентраций натрия селенита на прирост біомасы лакто- и біфідобактерій. Установлено, что повышенные концентрации натрия селенита угнетают рост мікроорганізмів. Основными показателями, характеризующими накопление біомасы, были показатели оптической плотности среди культивирования и количества колониеобразующих единиц мікроорганізмів. Доказано, что исследуемые мікроорганізміи способны к біотрансформації неорганіческих форм селена и к превращению его в органические формы в процессе культивирования. С помощью флуориметрического метода определен количественный состав біотрансформированного селена.

Ключевые слова: лактобактерии, біфідобактерії, пробіотики, натрію селеніт, оптическая плотность



Copyright © 2015 by author and the journal "Food Science and Technology".
This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY).
<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>

Вступ

У наш час існує проблема низького рівня надходження мікроелементу селену до організму людини з продуктами харчування. Аналіз літературних даних свідчить про актуальність розробки нових джерел органічних форм мікроелементу. Перспективним біотехнологічним шляхом отримання таких джерел селену є використання в якості об'єктів для його біотехнологічного встроювання бактерій роду *Lactobacillus acidophilus* та *Bifidobacterium bifidum*.

Постановка проблеми

В останні роки значно розширились уявлення про есенціальність для організму людини багатьох мінорних компонентів їжі, котрі раніше не розглядалися в якості факторів, котрі необхідні для нормального функціонування організму людини. Дефіцит цих біологічно-активних речовин викликає зниження

резистентності організму людини до дії несприятливих факторів навколошнього середовища, формування имунодефіцитних станів. Важливу роль у підтриманні здорового статусу населення відіграє есенціальний мікроелемент селен [2,12]. Сьогодні актуальним напрямком досліджень є розробка нових продуктів харчування збагачених органічними формами селену, а також розробка селен-збагачених біологічно-активних добавок (БАД).

Літературний огляд

Селен – есенціальний мікроелемент незамінний у харчуванні людини. Він виконує роль агента, котрий сприяє детоксикації реакційоздатних похідних кисню; мікроелемент бере участь в утворенні макрофагів, еритроцитів; грає роль протипухлинного фактору; є складовою частиною багатьох ферментів та гормонів [3,7].

Одним із способів подолання селенодефіцитів, є розробка нових продуктів збагачених цим мікроелементом [1]. Літературні дані свідчать, що мікроорганізми здатні акумулювати і біотрансформувати неорганічні форми селену [5,8]. При додаванні джерела селену до середовища культивування значна його частина поглинається та біотрансформується мікроорганізмами з утворенням його органічних форм та наноструктур Se^0 [4, 9, 14]. Після біотрансформації в бактеріальній клітині близько 32 % селену знаходитьсь в мембранах, 22 % входить до складу клітинної стінки, 52 % – входить до складу амінокислот та розчинних білків протоплазми (із них 72 % міститься у фракції білків і амінокислот, 1 % зв.язаний із ліпідами і 27 % селену знаходитьсь в неорганічній формі). Біологічний синтез органічних форм селену, порівняно із іншими методами, потребує мало енергії та економічних витрат. Він є екологічно безпечним та виключає можливість утворення шкідливих побічних продуктів [8, 11, 13]. Це дозволяє включати їх в добовий рацион в дозах більших за середньодобову [10].

Основна частина

Метою роботи було визначення впливу концентрацій селену на динаміку накопичення біомаси культур лакто- і біфідобактерій та визначення кількісного вмісту акумульованого мікроорганізмами мікроелементу.

У роботі використовували музейні культури *Lactobacillus acidophilus* штам 412/307 та *Bifidobacterium bifidum* - I. Культивування лактобактерій проводили на середовищі із сирної сироватки, а біфідобактерій на кукурудзяно-лактозному середовищі. В

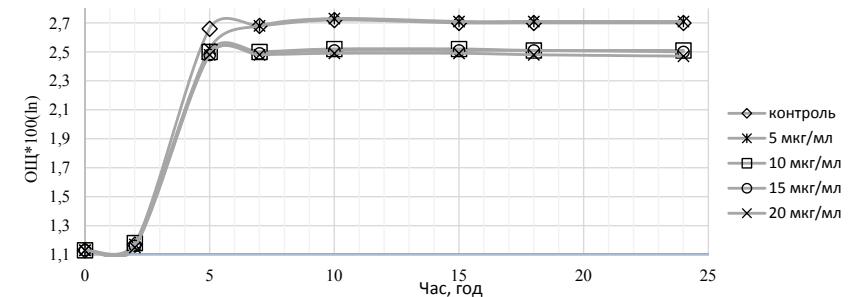


Рис. 1. Показники оптичної щільності біомаси лактобактерій

Отримані дані свідчать про вплив концентрації натрію селеніту на приріст біомаси лактобактерій. Показники оптичної щільності (ОЦН) у пробах із вмістом натрію селеніту в кількості 5 мкг/мл були близькими до контролю та не суттєво від нього відрізнялися протягом всього періоду культивування. В пробах із вмістом Na_2SeO_3 , 15 – 20 мкг/мл показники ОЦН протягом усього часу культивування були меншими

порівняно з контролем. Показники ОЦН у пробах із концентрацією Na_2SeO_3 , 5 – 10 мкг/мл були близькими до контролю. Дані свідчать про пригнічення росту лактобактерій високими концентраціями натрію селеніту.

Динаміка накопичення біомаси біфідобактерій при культивуванні на селеномісному середовищі відображенна на рис. 2.

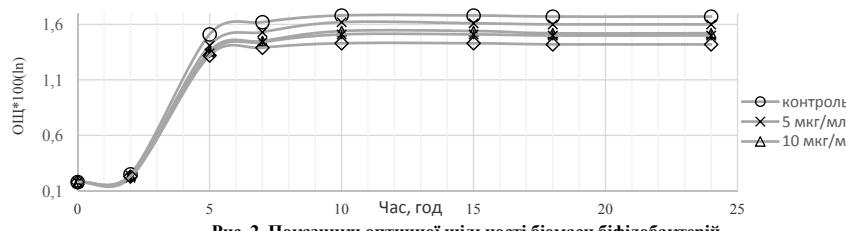


Рис. 2. Показники оптичної щільності біомаси біфідобактерій

Дані рис. 2 свідчать про більш інтенсивний вплив концентрацій Na₂SeO₃ на накопичення біомаси біфідобактерій, порівняно з лактобактеріями. Відмічено, що показники ОЦЩ при концентрації 5 мкг/см³ близькі до контролю, але при даній концентрації відмінно зниження в динаміці накопичення біомаси. Підвищення концентрації селену до 10–15 мкг/см³

викликало, більш інтенсивне зменшення показників ОЦЩ порівняно з контролем. Найменші показники накопичення біомаси біфідобактерій відмічено при концентрації селену натрію – 20 мкг/см³.

Залежність кількості колонієутворюючих одиниць мікроорганізмів від вмісту селену у середовищі культивування відображенна в таблиці 1.

Таблиця 1 – Зміна показників КУО лакто- і біфідобактерій у процесі культивування

Час/год	Концентрація натрію селену				
	Контроль	5 мкг/см ³	10 мкг/см ³	15 мкг/см ³	20 мкг/см ³
КУО/мл лактобактерій					
5	10 ⁻⁶	10 ⁻⁶	10 ⁻⁶	10 ⁻⁶	10 ⁻⁵
10	10 ⁻⁸	10 ⁻⁸	10 ⁻⁸	10 ⁻⁸	10 ⁻⁷
24	10 ⁻¹⁰	10 ⁻¹⁰	10 ⁻¹⁰	10 ⁻¹⁰	10 ⁻⁹
КУО/мл біфідобактерій					
5	10 ⁻⁶	10 ⁻⁶	10 ⁻⁶	10 ⁻⁶	10 ⁻⁶
10	10 ⁻⁸	10 ⁻⁸	10 ⁻⁸	10 ⁻⁷	10 ⁻⁷
24	10 ⁻⁹	10 ⁻⁹	10 ⁻⁹	10 ⁻⁸	10 ⁻⁸

Результати таблиці 1 свідчать про вплив сelenу натрію на накопичення біомаси мікроорганізмів, протягом всього процесу культивування. Так концентрація 20 мкг/см³ викликала пригнічення росту лактобактерій. Для біфідобактерій концентраціями пригнічуючими ріст були 15–20 мкг/см³.

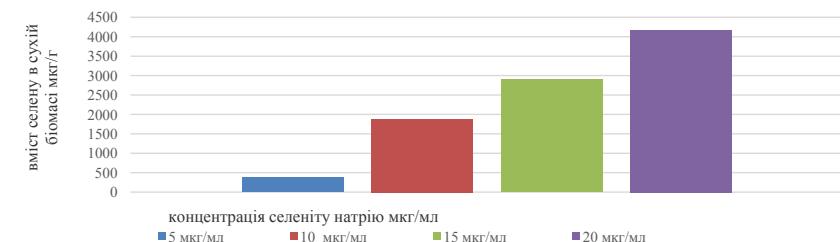
Наступним етапом було визначення кількісного вмісту біотрансформованого мікроорганізмами селену за допомогою флуориметричного методу. Визначали вміст акумульованого селену за показниками інтенсивності люмінесценції. Отримані дані відображені в таблиці 2.

Таблиця 2 – Залежність інтенсивності люмінесценції від концентрації селену натрію в середовищі культивування

Культури мікроорганізмів	Концентрація натрію селену, мкг/см ³	Інтенсивність люмінесценції, відн. од.
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	5	15
	10	48
	15	70
	20	98
<i>Bifidobacterium bifidum</i>	5	20
	10	38
	15	52
	20	50

Дані таблиці 2 свідчать про залежність інтенсивності люмінесценції від вмісту Na₂SeO₃. Максимальні показники інтенсивності люмінесценції зафіксовано у пробі із вмістом селену натрію 20 мкг/см³ – для лактобактерій і 15 мкг/см³ – для біфідобактерій.

За отриманими показниками інтенсивності люмінесценції визначали кількісний вміст селену, виражений в мкг/г сухої біомаси мікроорганізмів. Показники кількісного вмісту селену, накопиченого культурами лакто- та біфідобактерій відображені на рис. 3, 4.

Рис. 3. Динаміка накопичення селену культурою *Lactobacillus acidophilus* штам 412/307Рис. 4. Динаміка накопичення селену культурою *Bifidobacterium bifidum* I

Висновки

Таким чином, визначено пригнічуючий вплив високих концентрацій селену натрію (15–20 мкг/см³) на інтенсивність накопичення біомаси мікроорганізмів. Доведено, що при високих концентраціях селену натрію інтенсивність його біотрансформації вища, що пов’язано із відсутністю в бактерій механізму регуляції його надходження. Визначено, що раціональні показники накопичення селенозабагачених мікроорганізмів (10⁹–10⁸ КУО/см³) можна отримати через 24 години їх культивування на селеновмісній середовищі культивування. В цих умовах біфідо- і лактобактерії зберігали, як кількісно-якісні, так і фізіологічно-функціональні властивості клітин, включаючи пробіотичні ефекти.

Список літератури:

1. Капрельянц, Л. В., Іоргачова О. Г. Функціональні продукти / Л. В. Капрельянц, О. Г. Йоргачова – Одеса: "Друк", 2003. – С. 229-237.
2. Augilar, F., Charrandiere, U.R., Dusemund, B., Galtier P. L-selenomethionine as a source of selenium added for nutritional purposes to food supplements / F. Augilar, U.R. Charrandiere, B. Dusemund, P. Galtier // European Food Safety Authority – 2009. – № 13(10). – P. 1–39
3. Fairweather-Tait, S. J., Bao Y., Broadley M. R., Collings, R., Ford D. Selenium in human health and disease. Antioxid Redox Signal / S.J. Fairweather-Tait, Y. Bao, M.R. Broadley, R. Collings, D. Ford // Food & Health Innovation Service. – 2011. – № 6(4). – P. 337–383.
4. Galano, E., Mangiapane E., Bianga J., Palmese A., Szpunar J. Privileged incorporation of selenium as selenocysteine in *Lactobacillus reuteri* proteins demonstrated by selenium-specific imaging and proteomics / E. Galano, E. Mangiapane, J. Bianga, A. Palmese, J. Szpunar // Molecular & Cellular Proteomics. – 2006. – № 5(6). – P. 2196–2204.
5. Hossein, Yazdi M., Shahverdi A. Selenium nanoparticle-enriched *Lactobacillus brevis* causes more efficient immune responses in vivo and reduces the liver metastasis in metastatic form of mouse breast cancer / M. Hossein Yazdi, A. Shahverdi // J. Pharmaceutical Sciences. – 2013. – № 6(2). – P. 21–33.
6. Lu, J., Berndt C., Holmgren A. Metabolism of selenium compounds catalyzed by the mammalian selenoprotein thioredoxin reductase / J. Lu, C. Berndt, A. Holmgren // Biochim Biophys Acta. – 2009. – № 3(2). – P. 1513–1519.
7. Monsen, E. R. Dietary reference intakes for the antioxidant nutrients: vitamin C, Vitamin E, selenium, and carotenoids / E.R. Monsen // Journal of the American Dietetic Association. – 2000. – № 4(6). – P. 637–640.
8. Palomo, M., Gutierrez A. M., Perez-Conde M. C., Camara C., Madrid Y. Se metallomics during lactic fermentation of Se-enriched yogurt / M. Palomo, A.M. Gutierrez, M.C. Perez-Conde, C. Camara, Y. Madrid // Food Chemistry. – 2014. – № 12(4). – P. 371–379.

