

УДК 619.5:6;616-085.636.5



## Вплив преміксів на розвиток штамів молочнокислих та біфідобактерій

С.ДАНИЛЕНКО, канд.техн.наук  
Інститут продовольчих ресурсів НААН

**Анотація.** Досліджено вплив преміксів ФІЗ та Три-Сол на розвиток промислових штамів молочнокислих та біфідобактерій. Встановлено, що вказані премікси та компоненти поживного середовища, задовольняють потребу *L. plantarum*, *L. casei* *L. paracasei*ssp. *paracasei* та *B. longum* subsp. *suis* в джерелах азоту, вітамінах, вуглеводах, мінеральних речовинах. Рекомендовано використовувати премікси ФІЗ та Три-Сол як активатори росту молочнокислих та біфідобактерій.

**Ключові слова:** біомаса, біфідобактерії, молочнокислі бактерії, премікси, поживне середовище.

**Влияние премиксов на развитие штаммов молочнокислых и бифидобактерий.** ДАНИЛЕНКО С.Г., к.т.н., Институт продовольственных ресурсов НААН, г. Киев.

**Аннотация.** Исследовано влияние премиксов ФИЗ и Три-Сол на развитие промышленных штаммов молочнокислых и бифидобактерий. Установлено, что указанные премиксы и компоненты питательной среды, удовлетворяющие потребность *L. plantarum*, *L. casei* *L. paracasei*ssp. *paracasei* и *B. longum* subsp. *suis* в источниках азота, витаминах, углеводах, минеральных веществах. Рекомендуется использовать премиксы ФИЗ и Три-Сол как активаторы роста молочнокислых и бифидобактерий.

**Ключевые слова:** биомасса, бифидобактерии, молочнокислые бактерии, премиксы, питательная среда.

**Research of influence on the development of premixes strains of lactic acid bacteria and bifidobacteria.**

DANYLENKO S.G., Candidate of Technical Sciences, Institute of Food Resources, Kiev

**Abstract.** The influence of premixes PHYS and Three-Sol for the development of industrial strains of lactic acid bacteria and bifidobacteria investigated. It is found that the premixes and components of nutrient medium, satisfying the need of *L. plantarum*, *L. casei* *paracasei*ssp. *paracasei* and *B. longum* subsp. *suis* the sources of nitrogen, vitamins, carbohydrates, mineral substances. It is recommended to use premixes PHYS and Three-Sol as activators growth of lactic acid bacteria and bifidobacteria.

**Key words:** biomass, bifido

У сучасному тваринництві для вирощування поголів'я сільськогосподарських тварин все більшої популярності набувають пробіотики. Незважаючи на високу біологічну активність, мікрофлора, яку залучають до складу пробіотиків, надзвичайно чутлива до факторів зовнішнього середовища, джерел харчування та технологічних режимів при виробництві промислових препаратів та умов використання.

Традиційно для нагромадження біомаси молочнокислих мікроорганізмів використовують молочну сироватку з-під сиру або ферментний гідролізат знежиреного молока, у які додатково вносять біологічно активні компоненти: різноманітні екстракти (наприклад, дріжджовий, кукурудзяний), вітаміни, окремі амінокислоти та мінеральні домішки (солі

мангану, заліза, натрію й калію) тощо. Завдання істотно ускладнюється, коли пробіотик складається з різних груп мікроорганізмів. У цьому разі необхідно не лише підібрати збалансоване за індивідуальними харчовими потребами кожного із бактеріальних складників поживне середовище, а й опрацювати основні технологічні режими культивування, а також враховувати й економічні чинники – вартість та доступність інгредієнтів.

Під час застосування пробіотиків було помічено, що їхня функціональна активність істотно підвищується при поєднанні з іншими функціональними добавками, наприклад, преміксами. До складу преміксів, зазвичай, входять макро- та мікроелементи, вітаміни, амінокислоти, антиоксиданти, ферменти, антибіотики та інші сполуки. Такий набір біологічно

Таблиця 1

**Поживні середовища для нагромадження біомаси штамів лактобацил та біфідобактерій**

Показник	Варіанти середовищ									
	ПС0	ПС1	ПС2	ПС3	ПС4	ПС5	ПС6	ПС7	ПС8	К
Молочна сироватка, дм <sup>3</sup>	1	1	1	1	1	1	1	1	1	-
ФІЗ, г	-	0,5	1,0	1,5	2,0	-	-	-	-	-
Три-сол, г	-	-	-	-	-	0,5	1,0	1,5	2,0	-
Цитрат натрію, г	10	10	10	10	10	10	10	10	10	-
Ацетат натрію, г	5	5	5	5	5	5	5	5	5	-
МРС, дм <sup>3</sup>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
рН до стерилізації	6,5	6,5	6,5	7,0	7,4	7,4	7,3	6,8	6,7	6,8
рН після стерилізації	6,3	6,25	6,35	7,15	7,1	7,1	7,0	6,55	6,4	6,45

Примітка \*. (-) компонент середовища відсутній.

активних речовин здатний задовольнити харчові потреби також молочнокислих і біфідобактерій, які, як відомо, надзвичайно вимогливі до елементів живлення і для свого повноцінного розвитку потребують не лише вуглецю та азотовмісних речовин, а й багатьох засобів росту та мінеральних сполук.

З цих позицій премікси можна розглядати як перспективну технологічно функціональну добавку для збагачення промислового поживного середовища для нагромадження біомаси молочнокислих та біфідобактерій, як рістстимуляторних засобів лактобацил та біфідобактерій.

**Метою даної роботи було дослідити вплив преміксів на розвиток промислових штамів молочнокислих та біфідобактерій.**

**Об'єктами дослідження** були штами лактобацил *Lactobacillus acidophilus*, *Lb. plantarum*, *Lb. casei*, *Lb. paracasei ssp. paracasei* і біфідобактерій *Bifidobacterium longum subsp. suis*, ізольовані з кишечника сільськогосподарських тварин (птиці та поросят) та премікси ФІЗ та Три-Сол. Премікс ФІЗ – це суміш полі- та олігофруктозанів, сарсапоніну (екстракту з юки *Schidigera sarsaponins*) та мінерального наповнювача. Премікс Три-Сол – розчинний мультивітамінний комплекс з незамінними амінокислотами (метіонін і лізин), макро- та мікроелементами.

Як базове нагромадження біомаси мікроорганізмів використовували рідке поживне середовище

(ПС0), до складу якого додавали освітлену сироватку та стимулятори росту, цитрат й оцтовокислий натрій (ПС0). У дослідні варіанти середовища додатково вносили премікси ФІЗ та Три-Сол у різній кількості. Склад досліджуваних варіантів поживних середовищ наведено у табл. 1.

Контролем слугувало середовище МРС з додаванням 1 % глюкози.

Культивування мікрофлори вели у періодичному режимі впродовж 12 год за оптимальної для кожної культури температури, а саме біфідобактерій ( $40\pm 1$ )°С, молочнокислих бактерій – ( $36\pm 1$ )°С.

Інтенсивність розвитку штамів у поживних середовищах оцінювали за динамікою нагромадження



Таблиця 2.

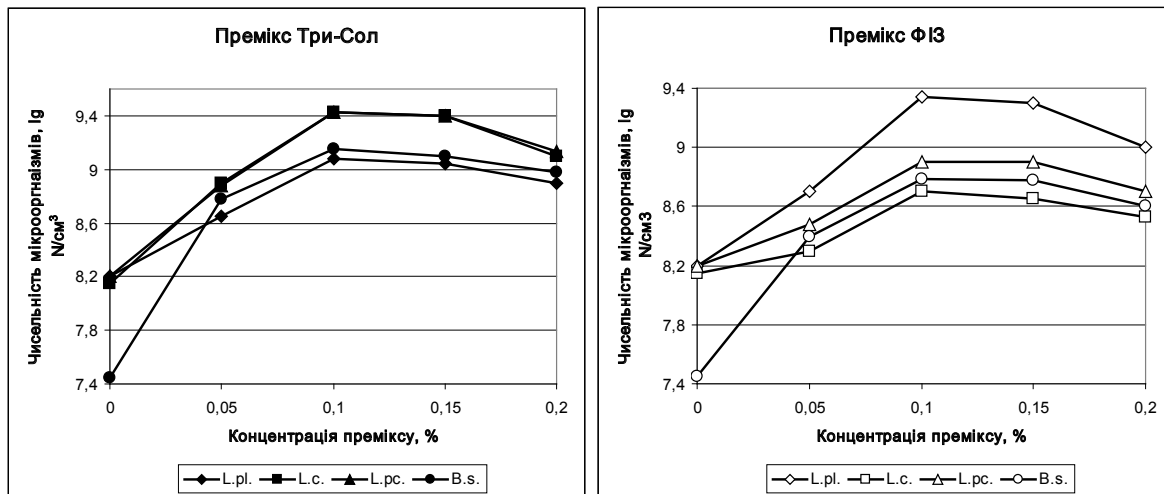
Основні параметри росту молочнокислих бактерій за розвитку у присутності преміксів ФІЗ та Три-Сол

Штами	Середовище	$m_{\text{макс}} \text{ год}^{-1}$	Тривалість лаг-фази, $T_i$ год	Константа швидкості поділу, $n \text{ од/год}^{-1}$	Термін регенерації $g$ , год.	Урожайність, $X \cdot 10^8 \text{ КУО/см}^3$
<i>L. paracasei</i>	MRS	0,28	2,48	0,43	2,33	9,5
	ПС0	0,15	4,62	0,2	5	1,1
	ПС2	0,24	2,89	0,38	2,63	5,7
	ПС6	0,34	2,04	0,68	1,47	11,53
<i>L. casei</i>	MRS	0,3	2,31	0,44	2,27	6,91
	ПС0	1,93	4,36	0,22	4,55	0,77
	ПС2	0,34	2,04	0,5	2	13,3
	ПС6	0,29	2,39	0,43	2,33	4,86
<i>L. plantarum</i>	MRS	0,19	3,65	0,29	3,45	2,54
	ПС0	0,15	4,62	0,21	4,76	0,67
	ПС2	0,37	1,87	0,55	1,82	13,66
	ПС6	0,32	2,17	0,47	2,13	10,3
<i>B. suis</i>	MRS	0,29	2,39	0,42	2,38	6,88
	ПС0	0,17	4,07	0,25	4	1,5
	ПС2	0,27	2,57	0,39	2,56	6
	ПС6	0,29	2,39	0,46	2,17	11,4



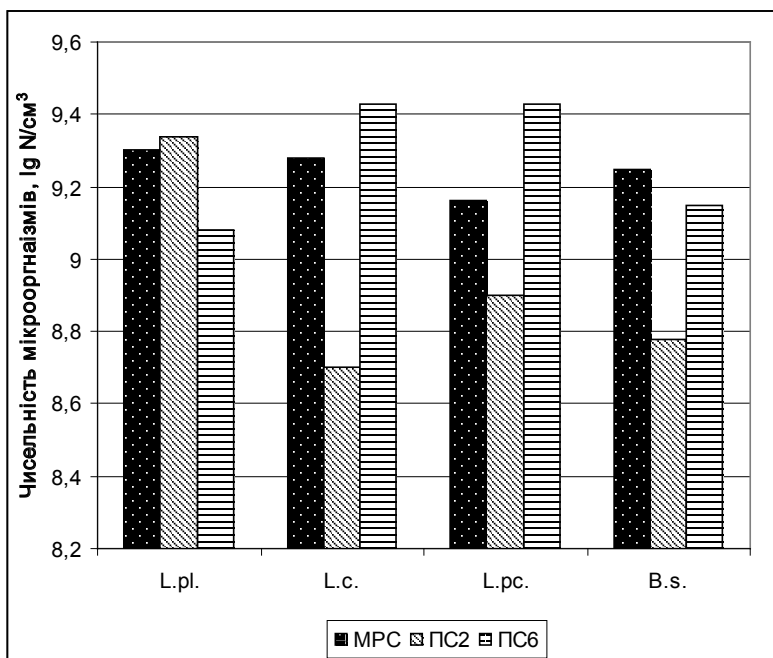
клітин та зміною активної кислотності за наступними параметрами: тривалість лаг-фази ( $T_i$ ), константа швидкості поділу (число поділу клітини за 1 год) ( $v$ ,  $\text{год}^{-1}$ ) та термін регенерації ( $g$ , год), урожайність ( $X$ , мг), економічний коефіцієнт ( $Y$ ) [1, 2]. Чисельність клітин мікроорганізмів упродовж росту визначали фотокolorиметрично за оптичною густиною культуральної рідини ( $\lambda = 540 \text{ нм}$ ) з наступним перерахунком за відповідним калібрувальним графіком.

Загальну кількість молочнокислих бактерій встановлювали стандартним методом висіву згідно з ГОСТ 10444.11-89 [3].; біфідобактерій - за ДСТУ 7355:2013 [4].



L.pl. – Lactobacillus plantarum, L.c. – Lactobacillus casei, L.pc. - Lactobacillus casei ssp.paracasei, B.s. – Bifidobacterium longum ssp.suis.

**Рис. 1. Чисельність клітин лактобацил та біфідобактерій за різної концентрації преміксів у поживному середовищі**



L.pl. – Lactobacillus plantarum, L.c. – Lactobacillus casei, L.pc. - Lactobacillus casei ssp.paracasei, B.s. – Bifidobacterium longum ssp.suis.

**Рис. 2. Чисельність лактобацил та біфідобактерій у середовищах MPC, PC2 і PC6**

В експериментальних умовах було встановлено, що максимальна кількість лактобактерій, що нагромадилась у середовищі MPC (контроль), коливалась у межах (9,22 - 9,49 lg) КУО/см<sup>3</sup>, а біфідобактерій – (9,36 lg N) КУО/см<sup>3</sup>. У дослідному поживному середовищі PC0 клітин лактобацил видів L. casei, L. paracasei та L. plantarum було менше у 18, 19 і 25 разів відповідно, що свідчило про нестачу факторів

росту у цьому варіанті середовища. Особливо несприятливим середовище PC0 було для біфідобактерій – чисельність цих мікроорганізмів була майже в 70 разів меншою, ніж у середовищі MPC.

Для підвищення ефективності ростового середовища було використано премікси ФІЗ та Три-Сол. Збагачення PC0 згаданими преміксами позитивно вплинуло на нагромадження клітин штамів молочнокислих і біфідобактерій, при цьому ця дія залежала як від виду мікроорганізму, так і кількості внесеного преміксу (рис. 1). Зокрема, премікс Три-Сол найліпше задовольняв потреби L. casei та L. paracasei, тоді як премікс ФІЗ – L. plantarum і B. suis. Навіть за мінімальної концентрації преміксу 0,5 % у PC чисельність усіх обстежених культур істотно зросла, досягаючи максимального значення за концентрації преміксів у середовищі 1,0 %. Збільшення кількості преміксів істотно не впливало на кількість мікроорганізмів в культурах.

Загалом внесення 1 % того чи іншого преміксу, дало змогу отримати у поживних середовищ PC2 і PC6 урожайність на рівні середовища MPC (рис.2).

Звертає на себе увагу той факт, що премікс ФІЗ був особливо ефективним для лактобацил L. casei, L.paracasei, тоді як премікс Три-Сол – для представника виду L. plantarum. Що стосується біфідобактерій B..suis, то обидва премікси ФІЗ і Три-Сол забезпечували приріст біомаси цього мікроорганізму, відповідно на 98 і 94 % від контролю. Така закономірність пояснюється особливим складом використаних преміксів, особливо ФІЗ, до складу якого входять інулін,

фруктоолігосахариди, комплекс необхідних вітамінів та антиоксидантів. Водночас залучення до складу промислового середовища згаданих преміксів не лише забезпечує збільшення виходу біомаси культур, а також може розглядатись як стимулятор функціональної активності штамів у разі їх використання як пребіотиків. Все це свідчить про їх високий промисловий потенціал.

Порівнюючи згадані вище штами молочнокислих та біфідобактерій у дослідних середовищах ПС2 і ПС6 визначали основні параметри росту культур. Результати цих досліджень відображено у табл. 2.

Було встановлено, що додавання преміксів скорочувало майже удвічі тривалість латентного періоду та терміну регенерації культур молочнокислих бактерій, особливо ефективним у цьому випадку був варіант ПС6.

Загалом молочнокислі бактерії впродовж 12 год. росли з різною швидкістю (константа поділу клітин ( $v$ ) коливалася у широкому діапазоні від 0,20 до 0,50 год<sup>-1</sup>). Для штамів *L. casei* та *L. paracasei* стаціонарна фаза наступала на 10 год культивування, для штаму *L. plantarum* – на 14 год. Термін генерації ( $g$ ) становив 1,5- 4,5 год. Максимальна чисельність клітин культур лактобактерій за визначений термін становила від 2,5 до 13,5·10<sup>8</sup> КУО/см<sup>3</sup>.

На адаптацію *B. longum subsp. suis* згадані премікси майже не впливали і тривалість лаг-фази у дослідних середовищах ПС2 і ПС6 була такою ж як у контролі, відповідно 2,57, 2,39 і 2,39 (рис. 1).

Найвищу кількість клітин біфідобактерій у середовищі MRS – 1,21·10<sup>9</sup> КУО/см<sup>3</sup> було досягнуто на 12 год культивування (табл. 2.), тоді як у середовищі ПС2 ця кількість досягалася уже на 9 годину культивування.

Отже, викладені вище результати свідчать, що для нагромадження молочнокислих мікроорганізмів та біфідобактерій до поживного середовища слід додавати 1,0 % преміксів. Це допомогло збільшити більше ніж в 2-3 рази порівняно з контролем кількість клітин у поживному середовищі для всіх штамів молочнокислих бактерій.

Загалом збагачення ПС преміксами (ПС2 та ПС6) дає змогу збільшити істотно вихід молочнокислих та біфідобактерій порівняно з контрольним середовищем MRS

З отриманих результатів випливає, що за культивуванні у поживних середовищах ПС 2 та ПС 6 можна отримати кількість клітин значно вище, ніж у контрольному середовищі MRS.

Загалом найкращі показники приросту чисельності молочнокислих бактерій було отримано у варіанті середовища ПС 2 та ПС 6, зокрема, урожайність молочнокислих бактерій зросла у 12,5 раза, а біфідобактерій у 6,4 раза порівняно з початковим вмістом.

#### Висновки.

Встановлено компоненти поживного середовища, що задовольняють потребу *L. plantarum*, *L. casei* *L. paracasei*ssp. *paracasei* та *B. longum subsp. suis* в джерелах азоту, вітамінах, вуглеводах, мінеральних речовинах.

Рекомендовано використовувати премікси ФІЗ та Три-Сол як активатори росту молочнокислих та біфідобактерій.

Визначено, що для нагромадження молочнокислих мікроорганізмів та біфідобактерій до поживного середовища слід додавати 1,0 % преміксів.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Шлегель Г. Общая микробиология.– М.: Мир, 1987.– 567 с.
2. Перт С.Дж. Основы культивирования микроорганизмов и клеток.– М.: Мир, 1978.– 331с.
3. Продукты пищевые. Методы определения молочнокислых микроорганизмов ГОСТ 10444.1189.– [Дата введения 19910101].– М.: Издательство стандартов, 1973.– с. 6.
4. Молоко, молочні продукти та закваски. Метод визначення кількості біфідобактерій. ДСТУ 7355:2013.– [Чинний від 20140101].– К.: Держспоживстандарт України, 2013.– с. 12 (Національний стандарт України).

