

УДК 615.451.2

Капрельянц Л. В., д.т.н., професор (leonid@onaft.edu.ua), ▼**Труфкаті Л. В.**, к.т.н., доцент (trufkati@gmail.com)**Крупицька Л. О.**, аспірант ©

Одеська національна академія харчових технологій, м. Одеса, Україна
**ПОЖИВНЕ СЕРЕДОВИЩЕ ДЛЯ КУЛЬТИВУВАННЯ БАКТЕРІЙ РОДУ
BIFIDOBACTERIUM НА ОСНОВІ РОСЛИННОЇ СИРОВИНИ**

У даній роботі вивчено вплив різної масової частки соєвої сироватки у складі живильного середовища на розвиток та зміну біологічної активності пробіотичних бактерій роду *Bifidobacterium*. Проведені мікробіологічні дослідження дозволили встановити, що 3% соєвої сироватки у лактозному середовищі ефективно відображається на культивуванні та накопиченні біомаси бактерій роду *Bifidobacterium* з метою використання в харчовій промисловості. Також рекомендовано використання лактозного середовища з додаванням 4 – 5 % соєвої сироватки для культивування досліджуваного штаму з метою отримання біологічно активних препаратів, що використовуються в медицині для корекції та профілактики дисбактеріозів.

Ключові слова: *Bifidobacterium*, культивування, біомаса, поживне середовище, соя, соєва сироватка, активна кислотність.

УДК 615.451.2

Капрельянц Л. В., д.т.н., професор, **Труфкаті Л. В.**, к.т.н., доцент,**Крупицька Л. А.**, аспірант

Одесская национальная академия пищевых технологий, г. Одесса, Украина
**ПИТАТЕЛЬНАЯ СРЕДА ДЛЯ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ БАКТЕРИЙ РОДА
BIFIDOBACTERIUM НА ОСНОВЕ РАСТИТЕЛЬНОГО СЫРЬЯ**

В данной работе изучено влияние массовой доли соевой сыворотки в составе питательной среды на развитие и изменение биологической активности пробиотических бактерий рода *Bifidobacterium*. Проведенные микробиологические исследования позволили установить, что 3% соевой сыворотки в лактозной среде является эффективным для культивирования и накопления биомассы бифидобактерий с целью использования в пищевой промышленности. Также рекомендовано использование лактозной среды с добавлением 4 – 5 % массовой доли соевой сыворотки для культивирования исследуемых микроорганизмов с целью получения биологически активных препаратов, используемых в медицине для коррекции и профилактики дисбактериозов.

Ключевые слова: *Bifidobacterium*, культивирование, биомасса, питательная среда, соя, соевая сыворотка, активная кислотность.

UDC 615.451.2

Kaprelyants L. V., Doctor of Technical Sciences, Professor,**Trufkaki L. V.**, PhD, Assistant Professor, **Krupitskaya L. A.**, graduate student.*Odessa National Academy of Food Technologies, Odessa, Ukraine*

**NUTRIENT MEDIUM FOR THE CULTIVATION BIFIDOBACTERIUM KIND
BASED ON PLANT MATERIALS**

*In this paper we were studied the effect of different mass fraction of soy whey as a part of the culture medium for the development and accumulation of the biological active of the probiotic strain *Bifidobacterium longum*. Microbiological studies revealed that 3% of the mass fraction of soybean whey in lactose medium, most effective for culturing and*

accumulation biomass of bacteria species Bifidobacterium longum for use in the food industry. It is also recommended to use lactose medium supplemented with 4% and 5% of the soya whey for culturing the test strain to produce biologically active drugs used in medicine for the prevention and correction of dysbacteriosis

Key words: *Bifidobacterium, cultivation, biomass, nutrient medium, soybeans, soya whey, active acidity.*

Вступ. Дефіцит біфідобактерій у складі шлунково-кишкового тракту людей різних вікових груп виникає внаслідок дії багатьох чинників: використання антибіотиків і різних фармацевтичних препаратів, вплив радіохвиль та хіміотерапії, вплив ксенобіотиків їжі. Все це призводить до розвитку захворювань шлунково-кишкового тракту та інших органів і систем організму людини. Основним засобом відновлення порушеного біоценозу є використання біфідобактерій у складі пробіотичних препаратів, як в лікувальних, так і в профілактичних цілях.

Біфідобактерії займають особливе місце серед різних представників облигатної мікробіоти людини, яка складається на 85 – 98% з біфідобактерій. Саме біфідофлора відіграє важливу роль у підтримці та нормалізації мікробіоценозу шлунково-кишкового тракту, неспецифічній резистентності організму, поліпшенні білкового обміну та ін. Дефіцит біфідобактерій є одним з патогенетичних факторів тривалих кишкових дисфункцій у дітей і дорослих, що призводить до порушення мінерального обміну і процесів кишкового всмоктування, до порушення білкового та жирового обмінів, до формування хронічних розладів травлення [5].

Сьогодні розширюється виробництво препаратів і продуктів харчування пробіотичної дії, призначених для корекції мікробіоти шлунково-кишкового тракту за допомогою біфідобактерій.

У даний час, поживні середовища, що використовуються для культивування біфідобактерій в промислових умовах, готують на основі натуральної харчової сировини, що істотно впливає на собівартість готових препаратів. Вагомість пробіотичних препаратів і продуктів диктує необхідність розробки нових, ефективних, недорогих виробничих поживних середовищ для накопичення мікробної біомаси. Виробниче поживне середовище повинне забезпечувати: високу швидкість розмноження – для біфідобактерій до 18 годин; високу концентрацію життєздатних клітин в одиниці об'єму – не менше $1 \cdot 10^{10}$ КУО/см³; зберігання життєздатних мікробних клітин – не менше 70...90 діб.

Все вищевикладене свідчить про те, що, незважаючи на наявні досягнення у галузі біотехнології пробіотиків, її вдосконалення залишається актуальним. Пошук нових, більш ефективних засобів культивування біфідобактерій, а також технологічних прийомів, що дозволять оптимізувати їх виробництво, є перспективним напрямком [4].

Відомі різні поживні середовища для культивування біфідобактерій, такі як: гідролізоване молоко, середовище Блаурокка, тіогліколеве середовище [1], MRS-бульйон, кукурудзяно-лактозне середовище (КЛС) [5]. Вуглеводна частина поживних середовищ представлена переважно лактозою. До їх складу також входять як азотистого харчування пептони і відвари рослинного і тваринного походження. У разі технологічного виробництва використовують кукурудзяно-лактозне середовище, оскільки кукурудзяний екстракт є джерелом харчових волокон і фруктоолігосахаридів, тому стимулює ріст нормальної мікрофлори, крім того є менш коштовним, ніж сировина тваринного походження.

Після вивчення хімічного складу поживних середовищ було встановлено, що найбільш повноцінним і придатним для включення в поживні середовища, призначених для культивування біфідобактерій, є зернобобові культури та продукти їх переробки.

Окрім високоякісного білку соя містить велику кількість різноманітних біологічно-активних речовин функціонального призначення таких як: поліненасичені жирні кислоти, вітаміни, макро- і мікроелементи, харчові волокна, олігосахариди і не містить холестерину та твердих жирів [2].

Соеве молоко є багатим джерелом водорозчинних вітамінів (тіамін, рибофлавін, ніацин, фолієва кислота, токоферолі); вітамін К; а так само багато фосфором, залізом, цинком. Продукти переробки сої містять такі пребіотичні олігосахариди, як стахіозу і рафінозу, які стимулюють ріст біфідобактерій [3].

На основі вивчених літературних джерел встановлена можливість використання соєвого екстракту для удосконалення існуючих поживних середовищ для культивування біфідобактерій, що дозволить збільшити приріст мікробної біомаси і водночас, знизити витрати на виробництво середовища.

Метою роботи було удосконалення складу поживного середовища для культивування біфідобактрій.

Матеріали і методи. У роботі використовували музейні культури *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium longum*, *Bifidobacterium adolescentis*, при культивуванні на класичних поживних середовищах (кукурудзяно-лактозне середовище, MRS-бульйон) і на лактозному середовищі з додаванням різної масової частки соєвої сироватки.

Культивування біфідобактерій проводили на зазначених поживних середовищах протягом 24 годин, при температурі $(37 \pm 1) ^\circ\text{C}$.

Для визначення необхідної концентрації соєвої сироватки у рідкому лактозному поживному середовищі вивчали динаміку росту *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium longum*, *Bifidobacterium adolescentis* на середовищі з додаванням різної масової частки соєвої сироватки (1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 6%). У якості закваски використовували добові культури біфідобактерій, які були стандартизовані до $1 \cdot 10^6 \text{ КУО/см}^3$. Контролем служило рідке поживне кукурудзяно-лактозне середовище. Динаміка росту зазначених культур була вивчена в проміжку від 0 до 48 годин при температурі $(37 \pm 1) ^\circ\text{C}$.

У ході експерименту підраховували кількість клітин біфідобактерій за допомогою лічильної камери Горяєва і контролювали зміну активної кислотності культуральної рідини.

Кількісний облік життєздатних клітин біфідобактерій в експериментальних та контрольному зразках проводили методом граничних розведень у пробірках з напіврідким кукурудзяно-лактозним середовищем, з наступним термостатуванням посівів при температурі $(37 \pm 1) ^\circ\text{C}$ протягом 72 годин.

Приготування соєвої сироватки для додавання в експериментальні зразки живильного середовища включало в себе наступні етапи: замочування і шелушіння сої, обробка вологою парою при температурі $120 ^\circ\text{C}$ в розчині Na_2CO_3 , видалення розчину Na_2CO_3 , дезінтеграція, водна екстракція при температурі $100 ^\circ\text{C}$, фільтрування, пастеризація при температурі $90 ^\circ\text{C}$, охолодження до температури $37 ^\circ\text{C}$, внесення заквасок культури, сквашування при $37 ^\circ\text{C}$ до рН 4,5, або осадження білків за допомогою розчину лимонної кислоти при $90 ^\circ\text{C}$, фільтрація, нейтралізація лимонної кислоти розчином NaOH до рН = 6,8...7,0.

Результати досліджень. На першому етапі дослідження визначали зміну динаміки зростання біфідобактерій на традиційних поживних середовищах (кукурудзяно-лактозне середовище, MRS-бульйон») і на середовищі з додаванням соєвої сироватки. Дослідження показали, що всі три дослідні культури накопичували приблизно однакову кількість клітин на класичних середовищах: на кукурудзяно-лактозному середовищі – $1 \cdot 10^8$ КОЕ/см³, на бульйоні MRS – $3 \cdot 10^8$ КУО/см³, в той ж час на поживному середовищі з додавання соєвої сироватки кількість клітин складала $9 \cdot 10^9$ КОЕ/см³.

Через те, що кукурудзяно-лактозне середовище значно дешевше, ніж MRS-бульйон, то ми вибрали його як прототип. При заміні кукурудзяного екстракту на соєву сироватку, експериментальне середовище дало найкращий результат, тому було вирішено використовувати його в подальших дослідженнях для контролю культивування та накопичення біомаси.

На другому етапі дослідження вивчали зміни динаміки росту і активної кислотності біфідобактерій на рідкому лактозному середовищі з додаванням різної масової частки соєвої сироватки (1%, 2%, 3%, 4%, 5%, 6%). Як контроль використовували кукурудзяно-лактозне середовище. Підрахунок клітин здійснювали за допомогою камери Горяєва (рис. 1–6).

Як показують отримані результати, всі зразки характеризується високою біохімічною активністю.

Після 48 годин культивування кількість клітин на середовищі з масовою часткою соєвої сироватки 3% становила: *B. bifidum* – $4 \cdot 10^9$ КУО/см³, *B. adolescentis* – $7 \cdot 10^9$ КУО/см³, *B. longum* – $1 \cdot 10^{10}$ КУО/см³; що максимально наближалось до значень контролю, а саме: *B. bifidum* – $2 \cdot 10^9$ КУО/см³, *B. adolescentis* – $1 \cdot 10^9$ КУО/см³, *B. longum* – $7 \cdot 10^9$ КУО/см³; в той час як кількість клітин при культивуванні на лактозному середовищі з масовою часткою 1% і 2% були значно нижчими за контроль відповідно: *B. bifidum* – $1 \cdot 10^8$ КУО/см³ і $7 \cdot 10^8$ КУО/см³, *B. adolescentis* – $8 \cdot 10^7$ КУО/см³ і $4 \cdot 10^8$ КУО/см³, *B. longum* – $6 \cdot 10^7$ КУО/см³ і $6 \cdot 10^8$ КУО/см³. З підвищенням масової частки соєвої сироватки від 4% до 5% кількість клітин зростала відповідно: *B. bifidum* – $2 \cdot 10^{10}$ КУО/см³ і $6 \cdot 10^{10}$ КУО/см³, *B. adolescentis* – $2 \cdot 10^{10}$ КУО/см³ і $8 \cdot 10^{10}$ КУО/см³, *B. longum* – $7 \cdot 10^{10}$ КУО/см³ і $1 \cdot 10^{11}$ КУО/см³. Із збільшенням кількості соєвої сироватки збільшувалася також і активна кислотність середовища. У середовищі з додаванням 3% соєвої сироватки значення активної кислотності для різних культур було таким: *B. bifidum* – 4,52 одн.рН, *B. adolescentis* – 4,6 одн.рН, *B. longum* – 4,5 одн.рН. Активна кислотність у середовищі із додаванням 4% та 5% соєвої сироватки мала такі показники відповідно: *B. bifidum* – 4,42 і 4,31 одн.рН, *B. adolescentis* – 4,4 і 4,43 одн.рН, *B. longum* – 4,45 і 4,4 одн.рН.

Подальше збільшення масової частки сироватки до 6% незначно позначається на показниках приросту біомаси порівняно із зразком, який містить 5% соєвої сироватки. Так, кількість клітин станом на 24 годину культивування була такою: *B. bifidum* – $4 \cdot 10^9$ КУО/см³, *B. adolescentis* – $8 \cdot 10^{10}$ КУО/см³, *B. longum* – $6 \cdot 10^{11}$ КУО/см³, але вже на 30 годину кількість клітин була нижчою, ніж на середовищі з додаванням 5% соєвої сироватки, та продовжувала знижуватися далі. На середовищі з додаванням 6% соєвої сироватки відбувався активний приріст біомаси бактерій, ростові фактори середовища виснажувалися, накопичувались продукти метаболізму, про що свідчать значення активної кислотності, які мали значно нижчі показники, ніж в інших експериментальних зразках: *B. bifidum* – 4,1

одн.рН, *B. adolescentis* – 4,05 одн.рН, *B. longum* – 4,2 одн.рН. Все вищезазначене спричинило внутрішньовидову конкуренцію за споживання поживних речовин, що стало причиною зниження кількості клітин та значного збільшення кислотності після 24 годин культивування. Через те, що показник приросту біомаси бактерій на середовищі з додавання 3% масової частки соєвої сироватки має необхідне значення для використання в харчовій промисловості і максимально наближався до контролю, то ми пропонуємо цю концентрацію для використання у виробництві продуктів харчування з пробіотичними властивостями, в той час, як показники приросту біомаси на середовищі з додаванням 4% і 5% соєвої сироватки відповідають вимогам для виробництва біологічно-активних добавок, то це дозволяє рекомендувати середовище з додаванням цих масових часток сироватки для культивування біфідобактерій з метою отримання біологічно активних препаратів, призначених для корекції мікробіоти кишечника, профілактики та лікування дизбактеріозів.

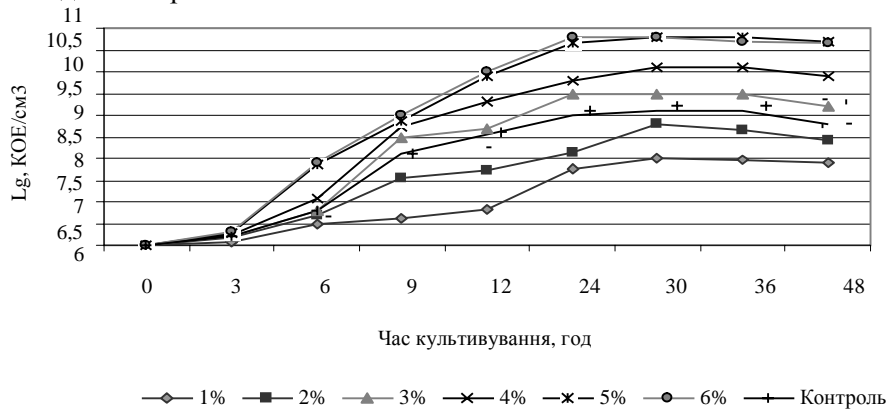


Рис. 1. Динаміка росту *B. bifidum* на лактозному середовищі з додаванням різної масової частки соєвої сироватки

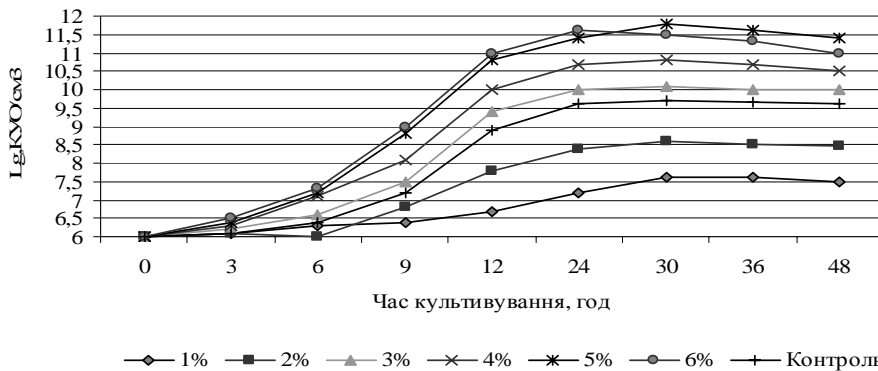


Рис. 2. Динаміка росту *B. longum* на лактозному середовищі з додаванням різної масової частки соєвої сироватки

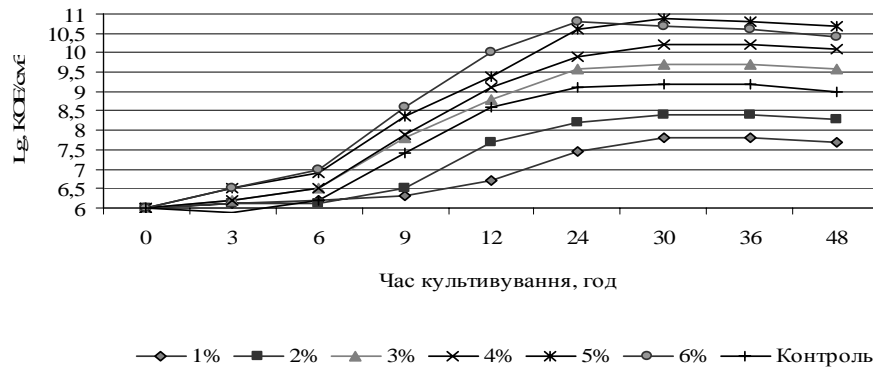


Рис. 3. Динаміка росту *B. adolescentis* на лактозному середовищі з додаванням різної масової частки соєвої сироватки

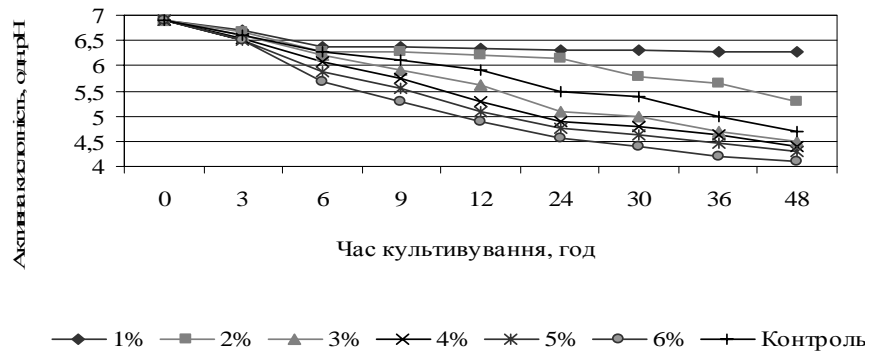


Рис. 4. Зміна активної кислотності середовища з додаванням різної масової частки соєвої сироватки при культивуванні *B. bifidum*

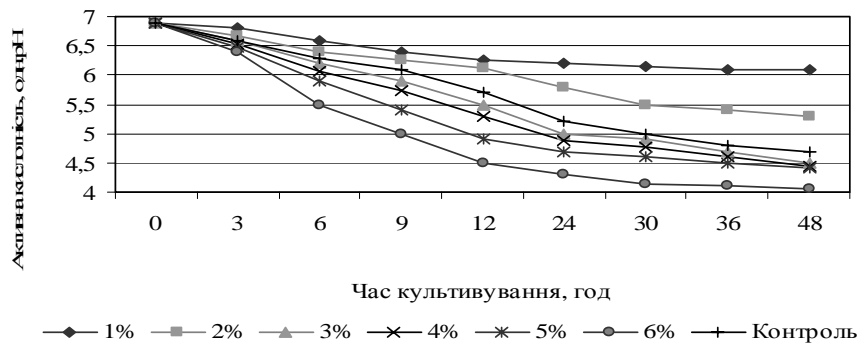


Рис. 5. Зміна активної кислотності середовища з додаванням різної масової частки соєвої сироватки при культивуванні *B. longum*

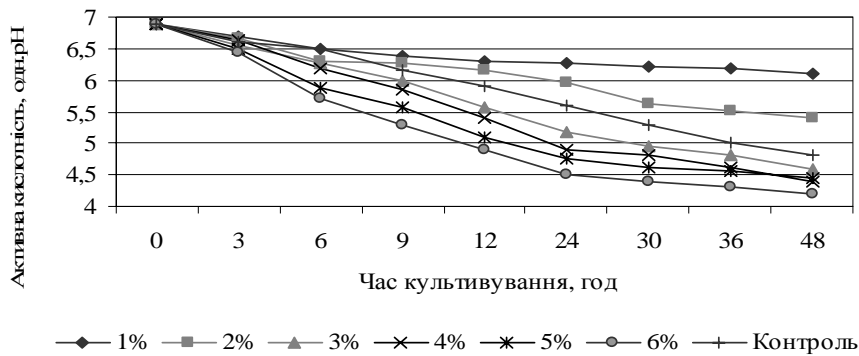


Рис. 6. Зміна активної кислотності середовища з додаванням різної масової частки соєвої сироватки при культивуванні *B. adolescentis*

Виявлено, що при культивуванні біфідобактерій на запропонованому живильному середовищі морфологічні, культуральні властивості біфідобактерій всіх штамів відповідають вимогам ВООЗ.

У мазках з культур, що виростили на експериментальному живильному середовищі, всі штами біфідобактерій мали типову морфологію палички з біфуркацією чи потовщенням з одного кінця, розташовувалися у вигляді пучків, а також у вигляді окремих особин.

Висновки. За підсумками результатів, з'ясували, що додавання соєвої сироватки в поживне середовище покращує його ростові якості, збагачуючи біфідогенними факторами, що сприяє накопиченню біомаси, доводячи кількість життєздатних клітин до 10^{10} КУО/см³, що значно вище, ніж при культивуванні на класичних поживних середовищах. Соева сироватка є відходом виробництва тофу, тому являє собою дешеву сировину, але цінну для отримання середовищ культивування біфідобактерій, оскільки містить природні стимулятори їх росту.

Проведені мікробіологічні дослідження дозволили вибрати необхідну кількість соєвої сироватки для додавання в лактозне поживне середовище – 3% від загального обсягу середовища. Вибір був аргументований тим, що показники кількості клітин біфідобактерій та активної кислотності середовища відповідали вимогам харчової промисловості і наближались до показників контрольного середовища.

З підвищенням масової частки соєвої сироватки від 4% до 5% кількість життєздатних клітин зростає до $2...7 \cdot 10^{10}$ КУО/см³ і $1...5 \cdot 10^{11}$ КУО/см³ відповідно. Такі дані дозволяють рекомендувати лактозне середовище з додаванням соєвої сироватки від 4% до 5% для культивування біфідобактерій з метою отримання біологічно активних препаратів, що використовуються в медицині для корекції та профілактики дисбактеріозів.

Перспективи подальших досліджень. Надалі плануємо дослідити можливість використання соєво-лактозного напіврідкого середовища для підрахунку кількості життєздатних клітин біфідобактерій у продуктах харчування та біологічно активних препаратах пробіотичного призначення.

Література

1. Байбаков В. И., Молокеев А. В., Никулин Л. Г. и др. Способ получения бифидосодержащих препаратов – Патент РФ 2104706,1998.

2. Капрельянц Л. В. Углеводные пробиотические вещества из сои / Л. В. Капрельянц, В. В. Шестобитов, Л. В. Рекичанская // Зерновые продукты и комбикорма. – 2005. – №2. – С. 18 – 20.

3. Петибская В. С. Соя: химический состав и использование \ В. С. Петибская; под ред. ак. РФСХН, д.с.н. В.М. Лукомца. – Майкоп: ОАО «Полиграф-ЮГ», 2012. – 432 с.

4. Шендеров, Б.А. Медицинская микробная экология и функциональное питание. В 3 т. Т. 3: Пробиотики и функциональное питание / Б.А. Шендеров. – М.: Грантъ, 2001. – С. 40–46.

5. Biavati, V. The Family Bifidobacteriaceae // The Prokaryotes. Third Edition: a handbook on the Biology of Bacteria: Synbiotic Association, Biotechnology, Applied Microbiology / V. Biavati, P. Mattarelli. – Singapore: Springer Science, 2006. – Vol. 3. – P. 322–382.

Стаття надійшла до редакції 7.09.2015

УДК 637.5

Кишенько І. І., д.т.н., проф.,

Національний університет харчових технологій, м. Київ,

***Крижова Ю. П.**, к.т.н., доц., **Лінкевич М. В.**, **Крупська А. А.** магістранти ©
(E-mail yuliya.kryzhova@mail.ru)

Національний університет біоресурсів і природокористування України, м. Київ

ЗАСТОСУВАННЯ БІЛКОВИХ ПРЕПАРАТІВ ТВАРИННОГО ПОХОДЖЕННЯ В ТЕХНОЛОГІЇ ШИНОК

Теоретично обґрунтовано і експериментально підтверджено можливість розроблення та використання у складі м'ясних продуктів білково-жирової емульсії (БЖЕ) з високими функціонально-технологічними властивостями та збалансованим амінокислотним і жирнокислотним складом, що обумовлюється використанням вторинної м'ясної білковмісної сировини.

Науково доведено необхідність використання в складі БЖЕ тваринних білків свинячого тримінгу AproGel - 1 %, білка на основі крові Vepro 95 HV – 1%, білкового стабілізатора зі свинячої шкурки -6 % та встановлено закономірність зміни стабільності функціонально-технологічних властивостей емульсії від природи і вмісту білкових препаратів та жирової композиції.

Обґрунтовано можливість регулювання функціонально-технологічних характеристик свинини PSE шляхом використання БЖЕ в кількості 15 % з метою виготовлення з неї шинкових виробів в оболонці підвищеної біологічної цінності зі стабільно високими структурно-механічними та органолептичними показниками.

Ключові слова: шинки, моделювання, свинячий тримінг, білково-жирова емульсія, білковий стабілізатор.

УДК 637.5

Кишенько І. І., д.т.н., проф.,

Національний університет пищевых технологий, г. Киев,

***Крыжова Ю. П.**, к.т.н., доц., **Линкевич М. В.**, **Крупская А. А.**, магістранты
Національний університет біоресурсів і природокористування України, г. Киев

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ БЕЛКОВЫХ ПРЕПАРАТОВ ЖИВОТНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ В ТЕХНОЛОГИИ ВЕТЧИН

Теоретически обосновано и экспериментально подтверждена возможность разработки и использования в составе мясных продуктов белково-жировой эмульсии