

УДК 579.864:621.796:612.015.6

## ЖИТТЄЗДАТНІСТЬ І ТІАМІНСИНТЕЗУЮЧА АКТИВНІСТЬ ПРОБІОТИЧНИХ ШТАМІВ ЛАКТОБАКТЕРІЙ У СКЛАДІ ЛІОФІЛІЗОВАНИХ ПРЕПАРАТІВ ПІСЛЯ ТРИВАЛОГО ЗБЕРІГАННЯ

Страшнова І. В., канд. техн. наук, доцент  
Одеський національний університет імені І. І. Мечникова

Встановлено, що пробіотичні штами лактобактерій у складі відповідних ліофілізованих бактеріальних препаратів зберегли високу життєздатність після дворічного зберігання. Найбільша кількість життєздатних клітин відповідних штамів лактобактерій збереглась у препаратах Лактоферм 25, Лактоплан 898 і 1005. Виявлено, що штами *L. fermentum* ОНУ 25, *L. curvatus* ОНУ 215, ОНУ 904, *L. acidophilus* ОНУ 291 і *L. plantarum* ОНУ 1005 здатні синтезувати тіамін у середовищі без тiazолу і всі досліджені штами продукували зазначений вітамін у середовищі з тiazолом. Максимальну кількість вітаміну  $B_1$  штами лактобактерій синтезували через 20 год культивування.

*It was found that the probiotic strains of lactobacilli of the respective freeze-dried bacterial preparations retained high viability after two years of storage. The greatest number of viable cells of the lactobacillus strains preserved in preparations Lactoferm 25, Lactoplan 898 and 1005. It was shown that strains of L. fermentum ONU 25, L. curvatus ONU 215, ONU 904, L. acidophilus ONU 291 and L. plantarum ONU 1005 synthesized thiamine in the medium without thiazole and all studied strains produced this vitamin in the medium with thiazole. Maximum amount of vitamin B<sub>1</sub> lactobacilli's strain were synthesized after 20 h. of cultivation.*

Ключові слова: пробіотичні штами лактобактерій, ліофілізовані бактеріальні препарати, життєздатність, тіамінсинтезуюча активність.

Відомо, що серед факторів харчування, які мають особливо важливе значення для підтримки здоров'я, працездатності й активного способу життя людини, велика роль належить повноцінному і регулярному постачанню її організму всіх необхідних мікронутрієнтів: вітамінів, мінеральних речовин і мікроелементів [1, 6, 11].

Одним із важливих шляхів вирішення проблеми здоров'я і харчування населення є створення і розширення асортименту функціональних продуктів харчування з одночасним покращенням їхньої якості. Велика увага приділяється створенню продуктів із використанням пробіотичних штамів мікроорганізмів, зокрема бактерій роду *Lactobacillus*. Пробіотичні штами лактобактерій, входячи до складу таких продуктів, позитивно впливають на слизову оболонку кишківника, її адсорбційну здатність, пригнічують розвиток умовно-патогенних мікроорганізмів, сприяючи нормалізації мікробіоценозу, синтезують низку біологічно активних речовин, зокрема вітамінів, амінокислот, гормоноподібних речовин та ін. [2, 7—10]. У цьому аспекті важливим є тривале збереження лактобактеріями їхньої біологічної активності.

Тому метою роботи було вивчення життєздатності і тіамінсинтезуючої активності 8 пробіотичних штамів бактерій роду *Lactobacillus* у складі відповідних ліофілізованих бактеріальних препаратів після довготривалого зберігання.

Матеріалом дослідження були 8 ліофільно висушених бактеріальних препаратів (Лактоплан 13, 130, 898, 1005, Лактокур 215, 904, Лактоферм 25 і Лактоацид 291), створених на основі пробіотичних штамів бактерій роду *Lactobacillus*.

Препарати зберігалися протягом 2-х років у темному місці при температурі 4 °С.

Для встановлення життєздатності штамів лактобактерій препарати переводили у розчинноподібний стан із розрахунку 1 см<sup>3</sup> фізіологічного розчину на 1 г препарату. Витримували протягом 10 – 15 хв при 22 – 25 °С. Після цього по 0,1 см<sup>3</sup> отриманих суспензій висівали на щільне поживне середовище MRS з наступним підрахунком числа колоній через 24 год культивування при 37 °С і розрахунком кількості колонієутворювальних одиниць у 1 мл (КУО/см<sup>3</sup>) за формулою:

$M = a \times 10^n / V$ , де  $a$  – кількість колоній, що виростили;  $10^n$  – розведення;  $V$  – посівна доза (0,1 см<sup>3</sup>) [3].

Для з'ясування здатності штамів лактобактерій *L. plantarum* ОНУ 13, ОНУ 130, ОНУ 898, ОНУ 1005, *L. curvatus* ОНУ 215, ОНУ 904, *L. fermentum* ОНУ 25 і *L. acidophilus* ОНУ 291, що входять до складу відповідних препаратів, синтезувати тіамін було проведено два варіанти дослідів. У першому варіанті 0,5 см<sup>3</sup> відновлених препаратів вносили у пробірки з 4,5 см<sup>3</sup> MRS-бульйону. У другому – безпосередньо пе-

ред посівом суспензій препаратів у пробірки з MRS-бульйоном вносили по 0,1 см<sup>3</sup> попередника тіаміну (4-метил-5β-оксіетилтіазолу) [4, 5].

На першому етапі досліджень визначали кількість життєздатних клітин пробіотичних штамів лактобактерій *L. plantarum* ОНУ 13, ОНУ 130, ОНУ 898, ОНУ 1005, *L. curvatus* ОНУ 215, ОНУ 904, *L. fermentum* ОНУ 25 і *L. acidophilus* ОНУ 291, що входять до складу відповідних ліофілізованих бактеріальних препаратів: Лактоплан 13, 130, 898, 1005, Лактокур 215, 904, Лактоферм 25 і Лактоацид 291, які зберігались протягом 2-х років.

Як видно із наведених на рис. 1 даних, після дворічного зберігання кількість життєздатних клітин усіх штамів лактобактерій незначно зменшилась, у порівнянні з цим самим показником, визначеним відразу після ліофілізації і через рік зберігання [6]. Так, у препараті Лактоферм 25 кількість життєздатних клітин штаму *L. fermentum* ОНУ 25 відразу після ліофілізації становила 8,92 lg КУО/г, через рік – 8,74 lg КУО/г, а через два роки – 8,42 lg КУО/г; у грамі препарату Лактоплан 1005 відразу після висушування життєздатних клітин штаму *L. plantarum* ОНУ 1005 було 9,12 lg КУО/г, через рік – 8,72 lg КУО/г, через два роки – 8,40 lg КУО/г.

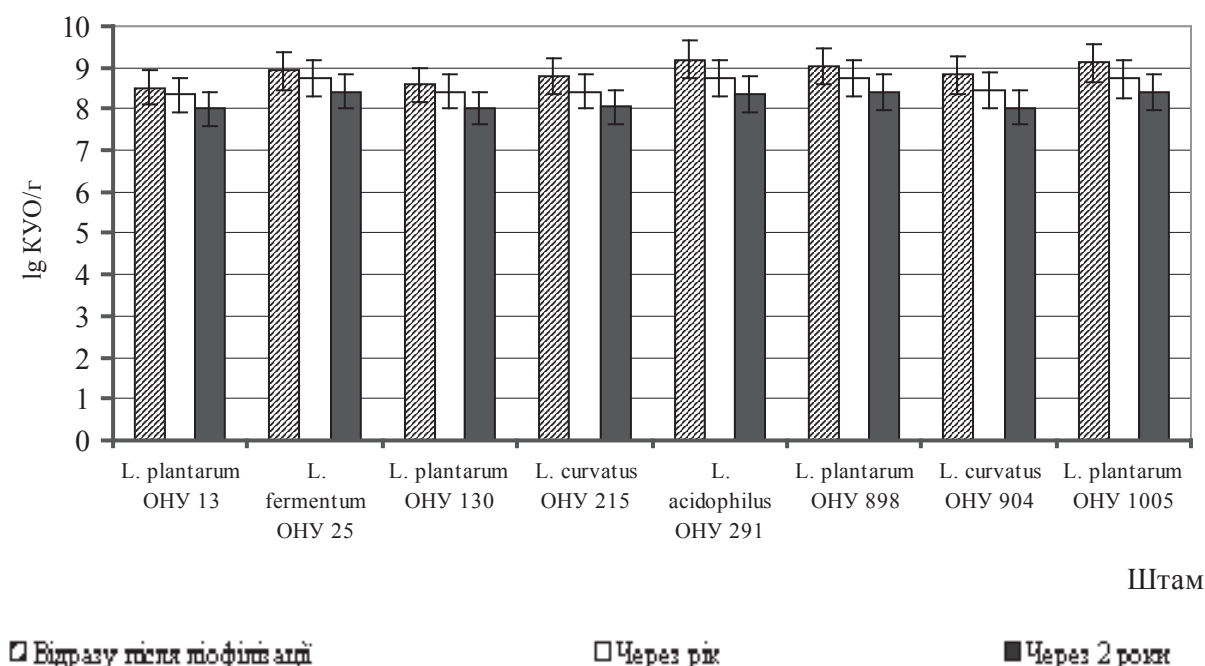


Рис. 1 – Життєздатність штамів лактобактерій у складі пробіотичних препаратів після тривалого зберігання

Найбільшу кількість життєздатних клітин відповідних штамів лактобактерій визначено у препаратах Лактоферм 25, Лактоплан 898 і 1005, найменшу – у препараті Лактоплан 13. В інших препаратах кількість життєздатних клітин відповідних штамів лактобактерій коливалась від 8,02 lg КУО/г (препарат Лактоплан 130) до 8,36 lg КУО/г (препарат Лактоацид 291).

Найкраще у складі відповідних препаратів збереглися штами *L. fermentum* ОНУ 25 і *L. plantarum* ОНУ 13, ОНУ 130: кількість життєздатних клітин через два роки зберігання зменшилась лише на 0,50, 0,52 і 0,56 lg КУО/г відповідно. Найсуттєвіше зменшилось число життєздатних клітин штаму *L. curvatus* ОНУ 904. Так, у препараті Лактокур 904 відразу після ліофілічного висушування кількість живих клітин цього штаму становила 8,82 lg КУО/г, через рік цей показник зменшився на 0,36 lg КУО/г, а через два роки – на 0,42 lg КУО/г.

Загалом, отримані результати свідчать про високий потенціал життєздатності досліджених пробіотичних штамів лактобактерій.

Не менш важливою характеристикою пробіотичних препаратів є збереження біологічної активності штамів мікроорганізмів.

Тому на другому етапі роботи нами було досліджено тіамінсинтезуючу активність зазначених штамів лактобактерій у складі відповідних препаратів.

Враховуючи результати попередніх досліджень визначення здатності лактобактерій синтезувати вітамін В<sub>1</sub> [6], перші проби аналізували через 6 год після посіву відновлених препаратів у середовища культивування.

Отримані дані наведено на рис. 2.

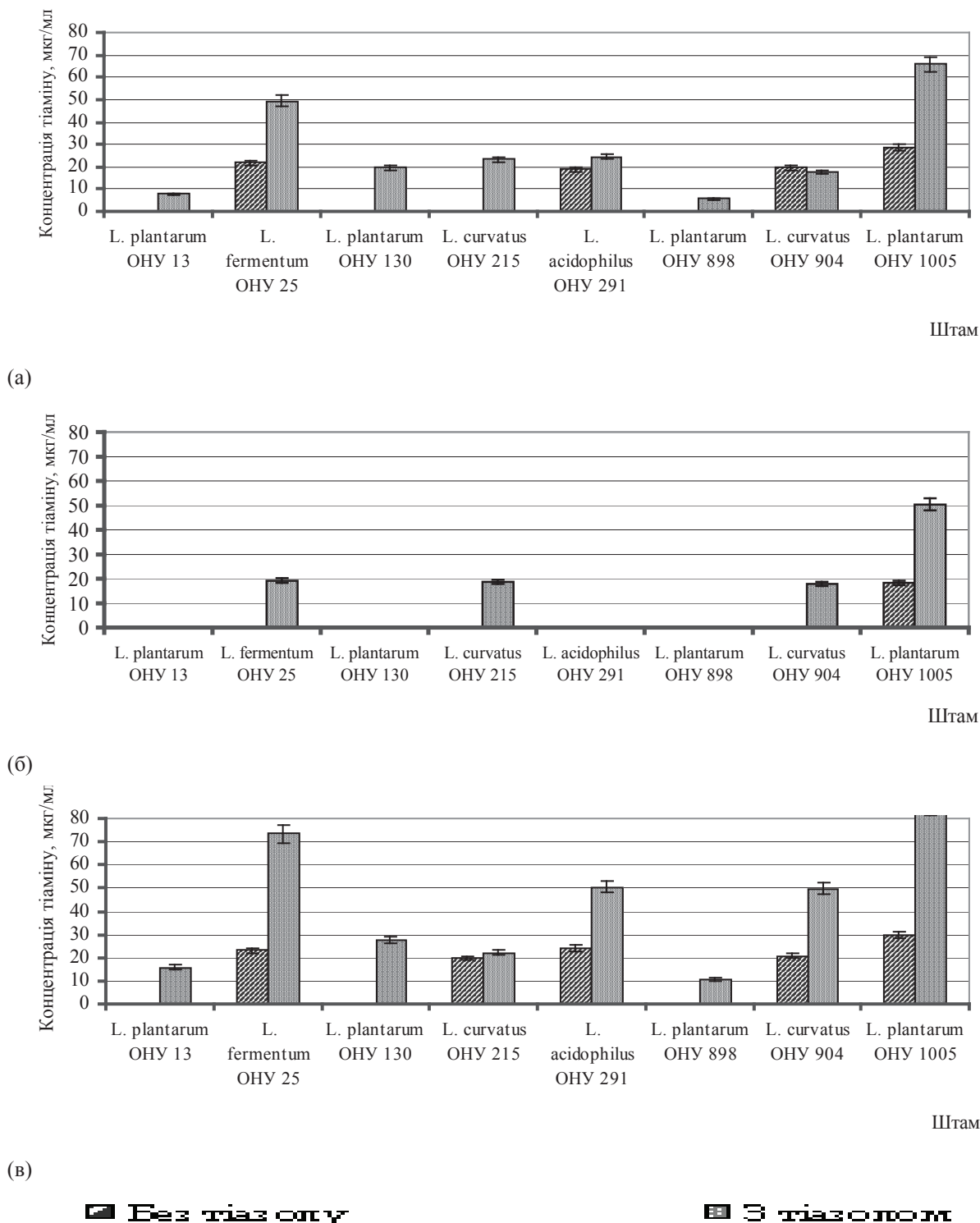


Рис. 2 – Тіамінсинтезуюча активність штамів лактобактерій у складі пробіотичних препаратів через 6 (а), 10 (б) і 20 (в) годин культивування

У результаті досліджень встановлено, що через 6 год культивування у середовищі без тiazолу вітамін В<sub>1</sub> синтезував лише штам *L. plantarum* OHY 1005 (концентрація тіаміну складала  $18,3 \pm 0,85$  мкг/см<sup>3</sup>) (рис. 2

а). Через цей самий проміжок часу, але у середовищі з попередником тіаміну, синтезуюча здатність виявлена також у штамів *L. fermentum* ОНУ 25 і *L. curvatus* ОНУ 215 і ОНУ 904. При цьому концентрації синтезованого ними вітаміну були на рівні, встановленому для *L. plantarum* ОНУ 1005 при його культивуванні у середовищі без тіазолу. У середовищі з попередником активність *L. plantarum* ОНУ 1005 зростає більше ніж у 2,5 рази (концентрація синтезованого ним вітаміну склала  $50,4 \pm 1,80$  мкг/см<sup>3</sup>).

Через 10 год культивування у середовищі без тіазолу почали продукувати тіамін ще три штами (*L. fermentum* ОНУ 25, *L. acidophilus* ОНУ 291 і *L. curvatus* ОНУ 904) (рис. 2 б). Концентрація синтезованого ними вітаміну була майже однаковою і коливалась від  $18,8 \pm 1,10$  мкг/см<sup>3</sup> (визначено для штаму *L. acidophilus* ОНУ 291) до  $21,9 \pm 1,10$  мкг/см<sup>3</sup> (штам *L. fermentum* ОНУ 25). Дещо більшу кількість ( $28,4 \pm 1,10$  мкг/см<sup>3</sup>) цього вітаміну продукував *L. plantarum* ОНУ 1005. А у середовищі з тіазолом через 10 год уже всі штами з різною інтенсивністю синтезували вітамін В<sub>1</sub>. Найбільшу кількість цього вітаміну виділяли у середовище культивування штами *L. plantarum* ОНУ 1005 і *L. fermentum* ОНУ 25 ( $65,7 \pm 0,82$  мкг/см<sup>3</sup> і  $49,4 \pm 1,24$  мкг/см<sup>3</sup>, відповідно), найменшу – штами *L. plantarum* ОНУ 13 і 898 –  $8,0 \pm 0,65$  мкг/см<sup>3</sup> і  $5,6 \pm 0,20$  мкг/см<sup>3</sup>, відповідно).

Через 20 год культивування у середовищі без тіазолу тіамінпродукуюча активність виявлена у ще одного штаму лактобактерій *L. curvatus* ОНУ 215: кількість синтезованого тіаміну склала  $19,8 \pm 0,85$  мкг/см<sup>3</sup> (рис. 2 в). Слід зазначити, що штами *L. fermentum* ОНУ 25, *L. curvatus* ОНУ 215 і ОНУ 904, *L. acidophilus* ОНУ 291, *L. plantarum* ОНУ 1005 і у середовищі без попередника продукували максимальну кількість вітаміну В<sub>1</sub> через 20 год культивування. Збільшення терміну експозиції суспензій препаратів не призводило до збільшення концентрації тіаміну. У трьох штамів *L. plantarum* ОНУ 13, ОНУ 130 і ОНУ 898 у середовищі без попередника тіаміну здатність до синтезу вітаміну В<sub>1</sub> не виявлена. Максимальна тіамінсинтезуюча активність лактобактерій у середовищі з тіазолом також виявлена через 20 год інкубації. Кількість визначеного тіаміну коливалась від  $10,7 \pm 0,20$  мкг/см<sup>3</sup> (встановлено для штаму *L. plantarum* ОНУ 898) до  $85,9 \pm 4,20$  мкг/см<sup>3</sup> (у штаму *L. plantarum* ОНУ 1005).

Таким чином, у результаті проведених досліджень встановлена життєздатність і тіамінсинтезуюча активність штамів *L. plantarum* ОНУ 13, ОНУ 130, ОНУ 898, ОНУ 1005, *L. curvatus* ОНУ 215, ОНУ 904, *L. fermentum* ОНУ 25 і *L. acidophilus* ОНУ 291 у складі відповідних ліофілізованих пробіотичних препаратів, що вказує на доцільність їх подальшого зберігання і перспективність використання у харчовій промисловості.

#### Висновки

1. Встановлено високу життєздатність пробіотичних штамів лактобактерій *L. plantarum* ОНУ 13, ОНУ 130, ОНУ 898, ОНУ 1005, *L. curvatus* ОНУ 215, ОНУ 904, *L. fermentum* ОНУ 25 і *L. acidophilus* ОНУ 291 у складі відповідних ліофілізованих бактеріальних препаратів Лактоплан 13, 130, 898, 1005, Лактокур 215, 904, Лактоферм 25 і Лактоацид 291 після довготривалого зберігання.

2. Найбільшу кількість життєздатних клітин відповідного штаму лактобактерій визначено у препараті Лактоферм 25, яка становила  $8,42 \lg$  КУО/г, кількість життєздатних клітин штамів *L. plantarum* ОНУ 898 і ОНУ 1005 у препаратах Лактоплан 898 і 1005 становила  $8,40 \lg$  КУО/г.

3. Після дворічного зберігання у складі ліофілізованих бактеріальних препаратів штами лактобактерій зберегли тіамінсинтезуючу активність.

4. Максимальну концентрацію вітаміну В<sub>1</sub> визначено через 20 год культивування лактобактерій у середовищі з тіазолом. Найбільшу кількість тіаміну ( $85,9 \pm 4,20$  мкг/см<sup>3</sup>) продукував штам *L. plantarum* ОНУ 1005.

#### Література

- Белкин В. Г., Лисицын А. Б., Дунченко Н. И., Кочеткова А. А., Позняковский В. М., Бабин Ю. В., Каленик Т. К. Современные тенденции в области разработки функциональных продуктов питания // Пищевые биотехнологии: проблемы и перспективы в XXI веке. Материалы III Международного симпозиума. – Владивосток: ТГУ, 2008. – С. 3 – 8.
- Горелов А. В., Усенко Д. В. Роль микрофлоры желудочно-кишечного тракта и принципы коррекции нарушений ее состава // Медицинский журнал. – 2008. – Т. 16, № 19. – С. 1 – 6.
- Методы общей бактериологии / Пер. с англ. Ф. Герхардт. – М.: Мир, 1984. – 264 с., ил.
- Начев Л., Гешева Р. Методика качественного и количественного определения витамина В<sub>12</sub>, синтезированного актиномицетами на агаризованной питательной среде // Микробиология. – 1978. – Т. 33, № 4. – С. 739 – 742.
- Поволоцкая К. Л., Зайцева Н. И., Скоробогатова Е. П. Флуориметрический метод определения рибофлавина // Витаминные ресурсы и их использование. – 1955. – Вып. 3. – С. 121 – 127.
- Фабіянська І. В. Розробка технології препаратів лактобацил і їх використання для виготовлення сиркопчених ковбас: Дис... канд. техн. наук. – О., 2008. – 303 с.

7. Хавкин А. И. Пробиотические продукты питания и естественный иммунитет // Лечащий врач. Медицинский научно-практический журнал. – 2009. – № 8. – С. 118 – 124.
8. Шевелева С. А. Медико-биологические требования к пробиотическим продуктам и биологически активным добавкам к пище // Инфекционные болезни. – 2004. – № 3. – С. 86 – 90.
9. Gill H. S., Guarner F. Probiotic and human health: a clinical perspective // Postgraduate Medical Journal. – 2004. – 80 (947). – P. 516 – 526.
10. Saavedra J. M., Tscherina A. Human studies with probiotics and prebiotics: clinical implication // Br. J. Nutr. – 2002. – V. 87, № 2. – P. 241 – 246.
11. Salminen S., Bouley C., Boutron-Ruault M-C. et al. Functional food science and gastrointestinal physiology and function // Br. J. Nutr. – 1998. – № 80. – P. 147 – 171.

УДК 547.458.2

## ВПЛИВ БІФІДОФЛОРИ НА АМІНОКИСЛОТНИЙ СКЛАД ФЕРМЕНТОВАНИХ СИНБІОТИЧНИХ МОЛОЧНИХ НАПОЇВ

\*Голуб Б.О., канд. техн. наук, \*\*Даниленко С.Г., канд. техн. наук,

\*Рудаєвська Г.Б., д-р. с.-г. наук, професор

\*Київський національний торговельно-економічний університет,

\*\*Технологічний інститут молока та м'яса УААН

*У статті наведено аналіз літературних джерел щодо особливостей розвитку біфідобактерій у молоці, впливу біфідогенних чинників на інтенсивність ферментування біфідобактеріями молочної сировини. Наведені результати аналізу амінокислотного складу синбіотичних кисломолочних напоїв, отриманих за допомогою різних штамів біфідобактерій.*

*It was analyzed of source of information that concerned to specifics of bifidobacteria growth in milk. Also it was analyzed influence of bifidus factors to milk fermentation by bifidobacteria. It was showed results of analyze of amino acids content of synbiotic beverages, that fermented with different strains of bifidobacteria.*

Ключові слова: біфідобактерії, синбіотичні молочні напої, амінокислоти, біфідогенні фактори.

Управління якістю ферментованих синбіотичних молочних напоїв передбачає використання спеціального інструментарію для керування насамперед такими складниками якості, як відповідність нормативним показникам, харчова безпечність та харчова цінність. Саме остання включає в себе ті критерії, які входять до списку першочергових для споживача. Здебільшого споживач впевнений, що продукція у місцях організованої торгівлі відповідає вимогам нормативних актів та документів. А от склад корисних компонентів, харчова цінність набирають все більшої ваги для споживацького вибору. Особливо це стосується сегменту харчових продуктів спеціального дієтичного призначення, оскільки на цьому ринку рівень освіченості споживача, усвідомлений вибір товару після ознайомлення з доступною інформацією є найбільш вираженими з-поміж інших сегментів ринку харчових продуктів. Інформативність споживчого маркування продуктів цієї групи повинна бути якнайвищою. Для еубіотичних харчових продуктів важливою частиною споживчого маркування є інформація про склад корисної пробіотичної мікрофлори. Зокрема, її склад є визначальним чинником у формуванні органолептичних та фізико-хімічних властивостей ферментованих молочних напоїв. Традиційний асортимент ферментованих молочних напоїв за шириною та глибиною нині значно поступається новітньому. Ряд мікроорганізмів введені у молокопереробне виробництво відносно недавно. І процес цей невпинно продовжується. Зрозуміло, що орієнтиром у виборі продукції з певною харчовою цінністю тепер є не найменування, а його склад. При цьому ряд не обов'язкових з точки зору стандартів характеристик харчової цінності не наводиться на маркуванні через значний обсяг чи відсутність такої традиції. Наприклад, це стосується і амінокислотного складу ферментованих молочних напоїв. Вид використовуваних заквашувальних мікроорганізмів може допомогти споживачу в оцінці харчової цінності харчового продукту, що робить завдання вивчення впливу заквашувальних культур на амінокислотний склад ферментованих продуктів актуальним.

Нами було поставлено за мету дослідити вплив біфідофлори на перебіг процесів перетворення азотистих сполук та формування амінокислотного складу готових синбіотичних напоїв. Об'єктом було обрано ферментовані молочні синбіотичні напої з використанням водного екстракту цикорію та різним складом біфідофлори. Для ферментації нами були обрані чисті монокультури біфідобактерій *Bifidobacterium*