

Выводы

Разработаны параметры получения липосом и на их основе технология получения липосомальных форм ферментных препаратов. Разработанная технология позволяет получить стабильную эмульсию липосомальных форм фермента, содержащую 65 % везикул размером от 70 до 250 нм, и 28,5 % – от 250 до 1080 нм, при чем 62 % из них мультимеллярные, массовая доля включенного фермента составила 55...65 % от внесенного, 20...25 % связалось и частично адсорбировалось на поверхности липосом.

Литература

8. Капрельянц, Л.В., Йоргачова К.Г., Функціональні продукти. / монографія / – Одеса: Друк, – 2003. – 312 с.
9. Shahidi, F. Encapsulation of food ingredients. [Text] / F. Shahidi and X.Q. Han // Crit. Rev. Food Sci. Nutr. – 1993. – № 33. – P. 501–547.
10. Ubbink, J. Physical approaches for the delivery of active ingredients in foods. [Text] / J. Ubbink, J. Kreger // Trends Food Sci Technol/ – 2006. – № 17. – P. 244–254.
11. Zuidam, N.J. Encapsulation Technologies for Active Food Ingredients and Food Processing [Text] /N.J. Zuidam, V.A. Nedovic // Springer Science. – 2010. – Vol. 7, – P. 311–322.
12. Патент на полезную модель RU № 2376012, МКИ А61К 9/127. Способ получения комбинированного липосомального антибактериального препарата / Ротов К.А., Алексеев В.В. и др. // Оpubл. 20.05.2009. – 3 с.
13. Забодалова, Л.А. Получение липосом из соевого лецитина. [Текст] / Л.А. Забодалова, В.А. Чернявский и др. // Материалы V Международной конференции «Низкотемпературные и пищевые технологии в XXI веке», СПбГУНиПТ. – 2011. – С. 296–297.
14. Pick, V. Liposomes with a large trapping capability prepared by freezing. [Text] /V. Pick // Arch, Biochem. and Biophys. – 1981. – Vol. 212. – P. 186–194.
15. Патент на полезную модель RU № 2391966, МКИ А61К 9/127, В82В 1/00. Наносистема на основе растительных фосфолипидов для включения биологически активных соединений и способ ее получения / Арчаков А.И., Гусева М.К., Учайкин В.Ф., Ипатова О.М., Тихонова Е.Г., Медведева Н.В., Лисица А.В., Прозоровский В.Н., Стрекалова О.С., Широин А.В. // заявитель и патентообладатель ООО «ЭкоБиоФарм», заявл. 13.02.2009; опубл. 20.06.2010.
16. Mukai N., Kawai M. Process for produsing milk clotting enzyme. US Patent № 3607655. September 1971.
17. The use of zeta potential measurements to study sterically stabilized liposomes [Electronic resource] – www.malvern.co.uk.
18. ГОСТ Р 53974-2010 Ферментные препараты для пищевой промышленности. Методы определения протеолитической активности. – М.: Стандартинформ. – 2011. – 16 с.

УДК 602. 4: 579.864: 546.23

КІНЕТИЧНІ ПАРАМЕТРИ НАКОПИЧЕННЯ БІОМАСИ *LACTOBACILLUS ACIDOPHILUS* НА СЕРЕДОВИЩАХ ІЗ СЕЛЕНОМ

Трегуб Н.С., аспірант, Капрельянц Л.В., д-р техн. наук, професор
Одеська національна академія харчових технологій, м. Одеса

*У статті наведено результати досліджень приросту біомаси *Lactobacillus acidophilus* на середовищі з додаванням різних концентрацій селеніту натрію. Визначено оптимальні концентрації селеніту натрію для культивування молочнокислих бактерій.*

*In the article the results of researches of biomass growth of *Lactobacillus acidophilus* on the medium with the addition of different concentrations of sodium selenite are resulted. The optimum concentrations of sodium selenite for cultivation of lactic acid bacteria are defined.*

Ключові слова: селеніт натрію, *Lactobacillus acidophilus*, тривалість генерації, питома швидкість росту лактобактерій.

На сьогодні індустрія біологічно активних добавок (БАД) і продуктів функціонального харчування динамічно розвивається. В останні роки розроблена велика кількість функціональних продуктів, які містять пробіотичну мікробіоту (пробіотики), збагачену мікронутрієнтами [3].

Сьогодні велике розповсюдження мають продукти, які отримують з використанням молочнокислих бактерій, які розглядаються як складові функціональних продуктів харчування і сприяють профілактиці захворювань [4].

Лактобактерії – широко використовувані у наш час пробіотичні мікроорганізми. Лактобактерії характеризуються антагоністичною активністю щодо широкого спектра патогенних та умовно-патогенних мікроорганізмів (стафілококи, ентеропатогенна кишкова паличка, протей), здатністю нормалізувати травну функцію шлунково-кишкового тракту, покращувати імунні процеси, сприяють відновленню природного імунітету [2, 7]. Ці пробіотичні мікроорганізми характеризуються безпекою для живих організмів [1]. Бактерії роду *Lactobacillus* є актуальними і перспективним як для профілактики і лікування дисбактеріозів при порушенні балансу нормальної мікробіоти, так і для створення препаратів, які підтримують захисні сили організму (Saarela et al., 2001).

Селен – фізіологічно важливий мікроелемент, біокоректор найвищого гатунку, поряд з цинком, кальцієм та калієм входить до складу більш ніж 200 гормонів і ферментів, регулює роботу всіх органів і систем організму, приймає участь в утворенні 80 % енергії в організмі людини. Він активізує обмінні процеси, стимулює імунну систему шляхом підвищення рівня лімфоцитів, нейтрофілів, моноцитів. Дефіцит селену викликає раннє старіння (накопичується кадмій, ртуть), приводить до порушення цілісності клітинних мембран, зниження активності згрупованих на них ферментів; накопичення кальцію всередині клітин; порушення метаболізму амінокислот і кетонових кислот; зниження енергопродуруючих процесів. Селен зв'язаний із обмінними процесами вітамінів E, C, A та каротиноїдів. Відіграє важливу роль у метаболізмі йоду (входить до складу трийодтироніндейодинами). Селен необхідний для нормальної роботи щитоподібної залози, порушення роботи якої викликає порушення росту та розвитку організму, зниження білкового та сольового обміну та підвищення вуглеводного обміну, кретинізму.

У живих організмах представлений у вигляді селеноцистеїну та селенметіоніну. Селен характеризується антиканцерогенними та антиоксидантними властивостями. Входить до складу активного центру ферменту глутатіонпероксидази, який каталізує реакції нейтралізації перекису водню, перекису ліпідів.

У наш час у багатьох регіонах України, зокрема в Одеській області існує серйозна проблема нестачі у споживанні мікроелемента селену, який у нормі надходить до організму з продуктами харчування. Саме тому на сьогодні актуальною є розробка біотехнології отримання селенвмісних пробіотичних препаратів та подальше їх використання в складі функціональних продуктів харчування.

У засвоєнні селену важливу роль відіграє рН шлунково-кишкового тракту, на який, у свою чергу, впливає мікробіота в нормі [5]. Літературні дані свідчать, що пробіотичні мікроорганізми здатні акумулювати в собі селен, тобто служать матрицями для його неорганічних форм. Саме в таких біологічних матрицях селен із неорганічної форми перетворюється в органічну [6]. Таким чином, в результаті «біоконверсії» біомаса лактобацил стає збагаченою органічними формами «вбудованого» мікроелемента селена, причому в основному в селеновмісних амінокислотах у складі пептидів і білків.

Метою даної роботи було визначення кінетичних параметрів накопичення біомаси *Lactobacillus acidophilus* на середовищі (із сирної сироватки), з додаванням селену.

У роботі використовували музейну культуру *Lactobacillus acidophilus* штам 412/307. Культивуацію проводили на середовищі з сирною сироваткою з додаванням молока, кукурудзяного екстракту та солей оцтово-кислого натрію і сульфату магнію. Культивування проводили в 500 мл колбах, які містили 300 мл сирної сироватки з додаванням селеніту натрію Na_2SeO_3 (ТОВ НВП ХЕМЕЛ) в концентраціях 1 мкг/мл, 2 мкг/мл, 3 мкг/мл, 5 мкг/мл, 8 мкг/мл, 10 мкг/мл. Селеніт натрію додавали в стерильному стані (розчищеному в дистильованій воді) в стерильне середовище. Контролем служило середовище без додавання селеніту натрію.

Для інокуляції використовували добову культуру лактобацил, яка була вирощена на середовищі MRS і стандартизована до $1 \cdot 10^8$ КУО/мл. Посівний матеріал вносили в колбу з середовищем в кількості 8 %.

Облік результатів проводили шляхом підрахунку колонієутворюючих одиниць (КУО) лактобактерій, які були вирощені на середовищі із сирної сироватки.

В ході роботи визначали концентрацію біомаси за показником оптичної щільності (ОЩ) суспензії при 590 нм (фотоколориметр КФК – 2 – УХЛ 4.2, кювета з відстанню 1 см). За отриманими даними будували графіки в напівлогарифмічних координатах.

В якості основних параметрів культивування, які характеризували толерантність лактобактерій до селену було прийнято здатність накопичувати біомасу та змінювати активну кислотність середовища в період культивування.

Була визначена питома швидкість росту мікроорганізмів та тривалість генерації.

$$\text{Питома швидкість росту мікроорганізмів визначали за виразом: } K = \frac{1}{t_1 - t_2} (\ln M_2 - M_1) \quad (1)$$

де К – питома швидкість росту;

t – час культивування;

M – оптична щільність.

$$\text{Тривалість генерації визначали за виразом: } T_p = \frac{\lg 2}{K} \quad (2)$$

де Т_p – тривалість генерації;

K – питома швидкість росту.

Показники впливу селеніту натрію в діапазоні концентрацій від 1 мкг/мл до 10 мкг/мл відображена в таблиці 1.

Таблиця 1 – Показники оптичної щільності проб з різними концентраціями селеніту натрію

Час	Концентрація селеніту натрію						
	Контроль	1 мкг/мл	2 мкг/мл	3 мкг/мл	5 мкг/мл	8 мкг/мл	10 мкг/мл
	Показники оптичної щільності ОЩ*100(ln)						
0	1,13	1,13	1,13	1,13	1,13	1,13	1,13
5	2,65	2,66	2,66	2,68	2,52	2,51	2,5
8	2,7	2,72	2,72	2,73	2,73	2,53	2,5
24	2,7	2,7	2,7	2,71	2,71	2,53	2,5

Дані таблиці 1 свідчать про вплив концентрацій селеніту натрію на приріст біомаси лактобактерій. Оптична щільність (ОЩ) у пробах із вмістом селеніту натрію в кількості 1 мкг/мл та 2 мкг/мл близька до контролю й не суттєво від нього відрізняється як після 5 годин культивування, так і після 10 годин культивування (в цей час спостерігається інтенсивний ріст мікроорганізмів). Найбільші значення оптичної щільності суспензії мікроорганізмів зафіксовано у пробі із вмістом селеніту натрію 3 мкг/мл. При цьому через 5 годин культивування оптична щільність збільшилась від 0,031 од до 0,147 од. Через 10 годин культивування ОЩ досягла 0,154 од. Найменші показники оптичної щільності фіксувались у пробах із вмістом селеніту натрію 8 мкг/мл та 10 мкг/мл. Показники ОЩ через 5 годин культивування мікроорганізмів підвищились від 0,031 од. до 0,125 од. (8 мкг/мл) та до 0,122 (для 10 мкг/мл). Через 10 годин культивування ОЩ становила 0,124 од. (8 мкг/мл) та 0,123 од. (для 10 мкг/мл).

Тобто наявність в середовищі селеніту натрію в концентрації 1-2 мкг/мл суттєво не впливає на ріст лактобацил, концентрація 3 мкг/мл проявляє слабкий стимулюючий ефект, а концентрація 5 мкг/мл викликає дещо пригнічуючий ефект на накопичення біомаси.

Паралельно вимірам оптичної щільності проводили титрування мікроорганізмів з різних проб на молоці. Титрування проводили через 5, 10, 24 години культивування мікроорганізмів. Отримані результати приведені в таблиці 2.

Таблиця 2 – Показники титрів мікроорганізмів

Вміст селеніту натрію, мкг/мл	Час культивування, год		
	5 год	10 год	24 год
	Титр м/о, КУО/мл		
0	10 ⁸	10 ⁹	10 ⁹
1	10 ⁸	10 ¹⁰	10 ¹⁰
2	10 ⁸	10 ¹⁰	10 ¹⁰
3	10 ⁸	10 ¹⁰	10 ¹⁰
5	10 ⁷	10 ⁹	10 ⁹
8	10 ⁶	10 ⁹	10 ⁹
10	10 ⁶	10 ⁸	10 ⁸

Отримані дані свідчать, що концентрації селеніту натрію 1 мкг/мл, 2 мкг/мл, 3 мкг/мл не викликають згубного впливу та забезпечують кращий приріст біомаси лактобактерій. Концентрації селеніту натрію 5 мкг/мл, 8 мкг/мл та 10 мкг/мл дещо пригнічують приріст культивованої біомаси, мабуть за рахунок пригнічення обмінних процесів в клітинах мікроорганізмів.

Таблиця 3 – Показники питомої швидкості росту та тривалості генерації

Кількість селеніту натрію, мкг/мл	Час культивування, год			
	0-5 год	0-10 год	0-5 год	0-10 год
	Питома швидкість росту, год ⁻¹		Тривалість генерації	
0	0,3	0,20	2,3	3,4
1	0,31	0,20	2,2	3,4
2	0,31	0,20	2,2	3,4
3	0,31	0,20	2,2	3,4
5	0,28	0,20	2,4	3,4
8	0,28	0,18	2,4	3,8
10	0,27	0,17	2,5	4,0

Згідно з даними таблиці 3 питома швидкість росту (ПШР) мікроорганізмів, у перші 5 годин культивування, у контролі та в пробах із вмістом селеніту натрію 1 мкг/мл, 2 мкг/мл, 3 мкг/мл і 5 мкг/мл була на відносно одному рівні й становила 0,3 – 0,31 год⁻¹ відповідно. В пробах із вмістом селеніту натрію 5 мкг/мл, 8 мкг/мл, 10 мкг/мл ПШР становила 0,28 та 0,27 год⁻¹. Після 10 годин культивування ПШР була на одному рівні для контролю та проб із вмістом селеніту натрію 1 мкг/мл – 5 мкг/мл, а найменшою в пробі із 10 мкг/мл. Зі зниженням питомої швидкості росту збільшувалась, відповідно, й тривалість генерації (найдовшою вона була для проби з концентрацією селеніту натрію 10 мкг/мл).

Таким чином, у процесі роботи виявлено, що найбільш оптимальними й стимулюючими ріст мікроорганізмів концентраціями селеніту натрію є 2 мкг/мл, 3 мкг/мл, які є найбільш раціональними при культивуванні молочнокислих бактерій. Це підтверджено завдяки вимірам оптичної щільності культивованої суспензії та проведеному титрації на молоці. Вищі концентрації (5 мкг/мл, 8 мкг/мл, 10 мкг/мл) селеніту натрію викликають пригнічення росту культивованих мікроорганізмів. При зростанні концентрацій до 5 мкг/мл, 8 мкг/мл, 10 мкг/мл – питома швидкість росту знижується.

В подальшому планується продовження вивчення кінетичних параметрів накопичення біомаси лактобактерій на інших поживних середовищах з додаванням селену та визначення оптимальних умов накопичення біомаси мікроорганізмів.

Література

1. Ганіна В.І. Пробиотики. Призначення, властивості і основи біотехнології: Монографія. – М.: МГУПБ, 2001. – 169 с.
2. Глушанова Н.А. Лактобацилли в исследовании и коррекции резидентной микрофлоры человека: Автореф. дис. канд. мед. наук. – Новокузнецк, – 1999. – 23 с.
3. Капрельянц Л.В., Йоргачова К.Г. Функціональні продукти. – Одеса: «Друк». – 2003. – 237 с.
4. Капрельянц Л.В., Хомич Г.А. Функціональні продукти: Тенденції і перспективи. /Харчова наука і технологія, 2012, – № 4. – С. 5 – 8.
5. Chukeatirote E. Potential use of probiotics // Songklanakarin J. Sci. Technol. 2003. – № 25. – P. 67–72.
6. Eszenyi P., Sztrik A., Babka B. Elemental, nano –sized (100-500 nm) Selenium production by probiotic lactic acid bacteria // International Journal of Bioscience, Biochemistry and Bioinformatics, Vol. 1, No. 2, July – 2011. – P. 74-79.
7. O'Sullivan D.J. Screening of intestinal microflora for effective probiotic bacteria // J. Ag. Food Chem. – 2001. – № 49. – P. 157-160.

УДК 637.146.34:[579.864+579.8 73.1]; 615.014.6

ДОСЛІДЖЕННЯ АКТИВНОСТІ ІНКАПСУЛЬОВАНИХ ПРОБІОТИКІВ У ЙОГУРТІ

Воловик Т.М., канд. техн. наук, асистент, Капрельянц Л.В., д-р техн. наук, професор
Одеська національна академія харчових технологій, м. Одеса

У статті наведено результати дослідження активності інкапсульованих пробіотичних культур у йогурті у процесі зберігання. Визначено органолептичні та фізико-хімічні показники, а також термін